biologia plantarum

ACADEMIA SCIENTIARUM BOHEMOSLOVENICA

TOMUS II
2
PRAHA 1960

9 APR 1962

biologia plantarum

Časopis pro experimentální botaniku
Journal for Experimental Botany
Журнал экспериментальной ботаники
Zeitschrift für experimentelle Botanik

Hlavní redaktor akademik B. Němec

Redakční rada: akademik C. Blattný, J. Brčák, I. Cetl, A. Činčerová, I. Hršel, K. Hrubý, J. Kloz, M. Luxová, akademik S. Prát, V. Rypáček, B. Slavík, výkonný redaktor, M. Sosna

Za překlady zodpovídají: G. Färber, Z. Landa, A. Ridesová, J. B. Rodendorfová, M. Vilbrová

Editor-in-Chief: B. Němec, Member of the Czechoslovak Academy of Sciences

Editorial Board: C. Blattný, Member of the Czechoslovak Academy of Sciences, J. Brčák, I. Cetl, A. Činčerová, I. Hršel, K. Hrubý, J. Kloz, M. Luxová, S. Prát, Member of the Czechoslovak Academy of Sciences, V. Rypáček, B. Slavík, Editorial Secretary, M. Sosna

Foreign Language Editors: G. Färber, Z. Landa, A. Ridesová, J. B. Rodendorfová, M. Vilbrová

Главный редактор академик Б. Немец

Редакционный совет: академик Ц. Блаттны, Я. Брчак, И. Гршел, К. Грубы, И. Клоз, М. Луксова, академик С. Прат, В. Рыпачек, Б. Славик, ответственный редактор, М. Сосна, И. Цетл, А. Чинчерова

Переводы на иностранные языки: М. Вильброва, З. Ланда, А. Ридесова, Е. Б. Родендорф, Г. Фербер

Hauptredakteur: B. Němec, Mitglied der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften

Redaktionsrat: C. Blattný, Mitglied der Tschsl. Akademie d. Wissenschaften, J. Brčák, I. Cetl, A. Činčerová, I. Hršel, K. Hrubý, J. Kloz, M. Luxová, S. Prát, Mitglied der Tschsl. Akademie d. Wissenschaften, V. Rypáček, B. Slavík, Redaktionssekretär, M. Sosna

Redaktion der fremdsprachigen Übertragungen: G. Färber, Z. Landa, A. Ridesová, J. B. Rodendorfová, M. Vilbrová

Scientific Conference on the Activities of the Biological Institutes of the Czechoslovak Academy of Sciences on the Occasion of its 10th Anniversary

will be held in Prague from 20—22 October, 1960

Preparatory programme of the conference:

1. Prospects and the social function of the biological sciences during the period of passage from socialism to communism — Academician I. Málek
2. Problems of pathogenesis and resistance in virus- and rickettsiae-diseases — Academician D. Blaškovič
3. Relations between soil microorganisms and plants — Dr. J. Macura
4. Problems of the biosynthesis of antibiotics — Dr. Vl. Ševčík
5. Continuous cultivation of microorganisms—a new method for theoretical research and the fermentation industry — Academician I. Málek
6. Progress of fundamental research in phytopathology — Academician C. Blattný
7. Application of biological method in combating insects — Dr. J. Weiser
8. Structure and development of the elementary foci of infection in a cultivated area — Corresponding member of ČSAV B. Rosický
9. Development and interrelations of specific immunological reactions — Dr. Šterzl
10. Immunology of the transplantation of tissues. — Doc. Dr. M. Hašek
11. Physiology of the weaning period in young mammals — Dr. J. Křeček
12. Trophic function of the nervous system — Doc. A. Gutmann
13. Reflex mechanism in the pathogenesis of epileptic seizures — Corresponding member of ČSAV Z. Servít
14. New methods of research on the physiological basis of the higher nervous activity — Dr. J. Bureš
15. Closing session

Secretariat of the Conference:
Dr. Josef Laufer
Biologický ústav ČSAV
Na cvičišti 2, Praha 6

The Czechoslovak Biochemical Society at the Czechoslovak Academy of Sciences in Prague intends to organize

the IInd Czechoslovak Biochemical Congress

with international participation to be held between August 29, and September 3, 1960, in Prague

Inquiries address to: Ing. M. Čihař, Chemický ústav ČSAV, Na cvičišti 2, Praha 6

Научная конференция К 10-ой годовщине деятельности биологических институтов Чехословацкой академии наук

20-го — 22-го октября 1960 г. в Праге

1. Перспективы и общественная функция биологических наук во время перехода от социализма к коммунизму — Академик И. Малек
2. Проблемы патогенезиса и сопротивляемости при вирусных и рикетсиозных заболеваниях — Академик Д. Блашкович
3. Взаимоотношения почвенных микроорганизмов и растений — Др. Й. Мацура
4. Проблемы биасинтеза антибиотических веществ — Др. Вл. Шевчик
5. Непрерывная культивация микроорганизмов — новый метод для теоретического исследования и для дрожжевой промышленности — Академик И. Малек
6. Процесс в области исследований в фитопатологии — Академик Ц. Блаттны
7. Применение биологических методов борьбы с насекомыми — Др. Й. Вейсер
8. Развитие и взаимоотношение специфических и иммунных реакций — Др. Й. Штерцл
9. Структура и развитие элементарных центров инфекций в культивированной области — Член-корреспондент Б. Росицки
10. Иммунология трансплантации тканей — Доц. Др. М. Гашек
11. Физиология периода после отнятия млекопитающих детенышей от матери — Др. Й. Кржечек
12. Трофическая функция нервной системы — Доц. А. Гутман
13. Рефлекторные механизмы в патогенезе эпилептического припадка — Член-корреспондент З. Сервит
14. Новые методы изучения физиологических основ высшей нервной деятельности — Др. Й. Буреш
15. Заключительная речь

Подготовительный секретариат конференции:
Др. Йозеф Лауфер,
Biologický ústav ČSAV
Na cvičišti 2, Praha 6

Чехословацкое биохимическое общество
при Чехословацкой Академии Наук в Праге
созывает

II-ой Государственный Биохимический съезд с международным участием

на 29-го августа — 3-го сентября в Прагу
Обращайтесь по адресу:
Ing. M. Cihlář, Chemický ústav ČSAV, Na cvičišti 2, Praha 6

BIOLOGIA PLANTARUM (PRAHA)

2 (2) : 79—87, 1960

Über die Bodenfeuchtigkeit, bei der die Pflanzen absterben

Žarko Stojanov

Institut für Forstwirtschaft der Bulgarischen Akademie der Wissenschaften, Sofia

Eingegangen am 23. Juni 1959

Souhrn

V práci je popsána jednoduchá metoda, podle které je možno zcela objektivně stanovit kritickou vlhkost půdy, při níž rostliny odumírají, na rozdíl od stanovení bodu vadnutí, které je zatíženo subjektivní chybou.

Pokusy se slunečnicí, fazolí, kukuřicí, pšenicí, pohankou, travinami, lesními dřevinami a různými druhy a odrůdami pšenice ukázaly, že vlhkost půdy, při níž rostliny odumírají, je u různých druhů a odrůd různá. Dále jsou citovány jiné autorovy práce (Stojanov 1955, 1957b a 1958), v nichž ukázal, že tato kritická vlhkost se mění jak hustotou porostu v monokulturách tak také složením porostu v porostech smíšených, a dále vlivem různých chemických látek a jejich koncentrace.

Hodnota půdní vlhkosti, při které rostliny odumírají, resp. bod trvalého vadnutí jsou významné nejen pro přežívání rostlin v době sucha, nýbrž ovlivňují pravděpodobně výnos i v případech, kdy těchto hodnot půdní vlhkosti není dosaženo; je to v souhlase s výzkumy Maximova a Komiserka, které ukázaly, že růst rostlin je určován také různou vlhkostí i v intervalu nad bodem dostupnosti půdní vlhkosti.

Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit ist eine einfache Methode beschrieben, mit deren Hilfe es möglich ist, die kritische Bodenfeuchtigkeit ganz objektiv zu bestimmen, bei der die Pflanzen absterben und zwar im Gegensatz zur Bestimmung des Welkungspunktes, die durch subjektive Fehler belastet ist.

Versuche an Sonnenblumen, Bohnen, Mais, Weizen, Buchweizen, Gräsern, Waldholzbäumen und verschiedenen Arten und Abarten des Zuchtweizens zeigten, dass die Bodenfeuchtigkeit, bei der die Pflanzen absterben, bei den verschiedenen Arten und Abarten verschieden ist. Ferner sind andere Arbeiten

des Autors zitiert (STOJANOV 1955, 1957b, und 1958) in denen er zeigte, dass diese kritische Feuchtigkeit sich nicht nur mit der Dichte der Bestände von Monokulturen, mit der Zusammensetzung der Bestände von Mischkulturen, sondern auch weiter sowohl unter dem Einfluss verschiedener chemischer Stoffe, als auch ihrer Konzentration ändert.

Die Werte der Bodenfeuchtigkeit, bei der die Pflanzen absterben, bzw. die Punkte des dauernden Welkens sind nicht nur für das Überleben von Pflanzen in der Zeit der Trockenheit wichtig, sondern beeinflussen wahrscheinlich die Ernte auch in Fällen, in denen diese Bodenfeuchtigkeitswerte nicht erreicht werden. Das ergibt sich aus den Untersuchungen von MAXIMOV und KOMISERKO, welche zeigten, dass das Pflanzenwachstum vom Abstand (von der Differenz) der Bodenfeuchtigkeit vom Punkte des unzugänglichen Wasser des Bodens abhängig ist.

Einleitung

Nach den Untersuchungen von BRIGGS und SCHANTZ (1912) soll die Welkungsfeuchtigkeit, d. i. der Feuchtigkeitsgehalt des Bodens, bei dem die Pflanzen bei Trockenheit absterben, nicht von der Pflanzenart, sondern vor allem von der Bodenart abhängig sein. Diese Auffasung herrschte ungeachtet aller Gegnerschaft lange Zeit in der Pflanzenphysiologie als massgebliches Postulat und heute noch sind die Meinungen über diese Frage geteilt. Die Meinungsverschiedenheiten über den Wert des Welkungskoeffizienten fussen vor allem auf der Subjektivität der Beurteilungen der Welkungserscheinungen. Was die Frage des Feuchtigkeitsgehaltes des Bodens anbelangt, bei dem die Pflanzen bei Trockenheit absterben, die Absterbefeuchtigkeit, wird in der Literatur angenommen, dass sie der maximalen Hygroskopizität oder der toten Reserve des Bodens entspricht (FEDOROWSKIJ 1948) und dass praktisch genommen alle Pflanzen den Boden bis zu ein und demselben Niveau entfeuchten (MAXIMOV und KOMISERKO 1950, VEIHMEYER 1956); es fehlen jedoch detaillierte experimentelle Untersuchungen in dieser Richtung.

In der Literatur gibt es über diese Frage gewisse, allerdings indirekte Angaben. Wir erwähnen die Arbeit von TUMANOV (1927, S. 431—434), der verschiedene Weizensorten 2 Wochen in welkem Zustand belässt und dann begiesst. So stellt er fest, dass eine grössere Zahl von Pflanzen der als dürreresistent bekannten Sorten am Leben bleiben, als der nicht dürreresistenten; aber er macht keine Angaben über die Feuchtigkeit des Bodens unter den Pflanzen der verschiedenen Sorten; auch zitiert er analoge Feldversuche von PISAREV (1922).

FOWELLS and KIRK (1945, S. 601—604) bestätigen, dass Pflänzchen von *Pinus ponderosa* imstande sind, einige Zeit am Leben zu bleiben, wenn die Bodenfeuchtigkeit niedriger ist als jene, bei der die Sonnenblume Dauerwelkung zeigt. STONE and FOWELLS (1955) und STONE (1958) stellen fest, dass *Pinus ponderosa*-Pflänzchen (sowie auch einige andere Koniferen) bei geringerer Bodenfeuchtigkeit zugrundegehen, als die Sonnenblume. Das Kriterium, ob die Pflanzen äusserlich gesehen am Leben geblieben sind, ist aber unzulänglich.

Im Zusammenhang mit den Versuchen in der vorliegenden Arbeit ist auch die Arbeit von KISSELEW (1935) zu erwähnen. Dieser Autor hat mittels Eintauchens der Pflanzen in verschieden konzentrierte Zuckerlösungen die Saugkraft, bei der oberirdische Teile verschiedener Pflanzenarten absterben und auch den Wassergehalt beim Eingehen bestimmt.

Zur Klärung dieser Frage wurden folgende Experimente durchgeführt.

Experimenteller Teil und Diskusion

In 25 Blumentöpfen mit einem oberen Durchmesser und einer Höhe von je 11 cm wurden Samen von Sonnenblumen (*Helianthus annuus* L.), Bohnen (*Phaseolus vulgaris* L.), Mais (*Zea mays* L.), Weizen (*Triticum vulgare* HOST.) und Buchweizen (*Fagopyrum sagittatum* GILIB.) vermischt ausgesät und zwar so, dass in jedem Gefässe je ein Exemplar der genannten Pflanzen Boden fasste. Nach zwanzigtägigem Wachstum wurde das Begiessen der Gefässe eingestellt. Nach dem Auftreten der Anzeichen eines starken Welkens der Sonnenblumen (bei dieser Art wurden derartige Symptome erstmalig beobachtet), wurden jeden Tag einige Gefässe aus dem Versuche ausgeschieden und von diesem Augenblicke an regelmässig begossen. Alle Pflanzen, die sich in den ersten Tagen ausgeschiedenen Gefässen befanden, blieben einer 15 Tage später erfolgten Kontrolle gemäss am Leben; in den Gefässen dagegen, die erst in den letzten Tagen des Experimentes ausgeschieden wurden, waren alle Pflanzen bereits abgestorben, während in denjenigen, die im Laufe der Zwischenzeit ausgeschieden wurden, einige Pflanzen neben einer Anzahl toter leben blieben; es wurde folgende Reihe des Absterbens festgestellt (STEFANOV und STOJANOV 1953).

1. Sonnenblume, die als erste abstarb; 2. Bohnen, 3. Mais, 4. Weizen und 5. Buchweizen, welcher als letzte Pflanzenart abstarb. In einigen Gefässen starb jedoch der Buchweizen vor dem Weizen ab, woraus anzunehmen ist, dass das Absterben dieser beiden Pflanzenarten etwa gleichzeitig eintritt. Dieses Experiment zeigt deutlich, dass die Pflanzenarten bei verschiedenen Feuchtigkeitsgraden des Bodens eingehen und zwar bei höchstem Feuchtigkeitsgehalt die Sonnenblume und bei niedrigstem der Buchweizen.

Anschliessend wurde ein Experiment zum Zwecke der unmittelbaren Bestimmung des Bodenfeuchtigkeitsgehaltes durchgeführt:

Etwa in je 15 Gefässen mit einem oberen Durchmesser und einer Höhe von je 11 cm wurden Samen jeder der oben erwähnten Pflanzenarten ausgesäht und zwar blieben nach allfälligem Jäten in jedem einzelnen Gefässe 5 Pflanzen der gleichen Art übrig. Nach zwanzigtätigem Wachstum wurde das Begiessen eingestellt. Bei den ersten starken Welkungsanzeichen jeder Pflanzenart wurden jeden Tag einige Gefässe der untersuchten Art ausgeschieden, die Erde jedes Behälters wurde entleert und es wurde eine Probe für die Feuchtigkeitsbestimmung entnommen (unter Beobachtung des Umstandes, dass einer 2 cm starken Schichte der Oberfläche und ringsum an den Wänden keine Proben entnommen werden dürfen); nach der Probenentnahme wurden die restliche Erde und Pflanzen wieder in die Gefässe zurückgegeben und von

diesem Zeitpunkte an wieder regelmässig begossen. Die in den ersten Tagen des Experiments ausgeschiedenen Gefässe wiesen einen hohen Feuchtigkeitsgehalt auf und die darin befindlichen Pflanzen erhielten sich am Leben, während sie in den Gefässen, die in den letzten Tagen ausgeschieden wurden und die einen weit niedrigeren Feuchtigkeitsgehalt aufwiesen, alle abgestorben waren; Gefässe dagegen, die in der Zwischenzeit aus dem Versuch genommen worden sind, wiesen einen mittleren Feuchtigkeitsgehalt auf und in manchen von ihnen waren (laut der nach 15 Tagen durchgeführten Kontrolle) Pflanzen noch am Leben.

Als Beispiel führen wir die Resultate an, die bei den Experimenten mit Weizen und Sonnenblumen erzielt wurden:

Weizen Sorte Nr. 11

3,18	3,22	3,27	3,33	3,35	3,38	3,46	3,56	3,59 L 1	3,68 L 1	3,74 L 1
4,25 L 4	4,31 L 1	4,37 L 2	4,68 L 2	5,49 L 2	5,51 L 4	5,55 L 2	5,86 L 2	6,44 L 4		

Sonnenblumen

6,31	6,58	7,04	7,71	7,88	8,42	8,64	8,65	9,04	9,26 L 1	9,35
9,36	9,57	9,71 L 5	10,05 L 3							

Die oberen Zahlen zeigen den Feuchtigkeitsgehalt des Bodens in Prozenten des absoluten Trockengewichtes an, wobei die Anzahl der lebend erhaltenen Pflanzenexemplare mit „L" und einer Ziffer unter die betreffenden Bodenfeuchtigkeitsangaben vermerkt wurden; das Fehlen des Buchstaben „L" bedeutet das Eingehen aller Pflanzen.

Daraus geht hervor, dass über die Grenze eines gewissen Feuchtigkeitsgehaltes hinaus Pflanzen am Leben bleiben, unterhalb dieser Grenze jedoch absterben. Besonders deutlich tritt dies beim Experiment mit Weizen hervor, bei Sonnenblumen ist diese Grenze nicht so scharf. Wenn die Absterbefeuchtigkeit durch zwei Zahlen ausgedrückt wird, deren eine den niedrigsten Feuchtigkeitsgehalt bezeichnet, bei dem die betreffenden Pflanzen am Leben bleiben, und die andere den höchsten Feuchtigkeitsgehalt, bei dem alle Pflanzen bereits abgestorben sind, kann man die Absterbefeuchtigkeit der fünf im Versuch behandelten Pflanzenarten darstellen, wie folgt:

	Absterbefeuchtigkeits—Intervall
Buchweizen	3,15—2,71
Weizen Sorte Nr. 11	3,59—3,56
Mais	5,79—4,59
Bohnen	8,73—6,26
Sonnenblume	9,71—9,04

Da die maximale Hygroskopizität der benützten Erde 4,45% ± 0,07 betrug, starben die Weizen- und Buchweizenpflanzen unterhalb der maximalen Hygroskopizität, die übrigen drei Pflanzenarten oberhalb derselben ab.

Nach der gleichen Methodik wurden Versuche mit Gräsern durchgeführt, die einen Monat sowie vier Monate alt waren. Es wurden folgende Arten untersucht: *Festuca elatior* L., *Bromus erectus* HUDS., *Hordeum secalinum* SCHREB., *Hordeum bulbosum* L., *Phleum pratense* L., *Arrhenatherum avenaceum* P. B., *Agrostis alba* L., *Agropyrum pectiniformae* R. S., *Lolium multiflorum* LAM., *Phalaris bulbosa* L., *Bromus inermis* LEYSS., *Bromus fibrosus* HACK., *Festuca fallax* HACK., *Dactylis glomerata* L., *Secale montanum* GUSS., und *Lolium perenne* L.

Die Untersuchungen zeigten, dass alle diese Gräser bei beinahe gleicher Bodenfeuchtigkeit eingehen, die niedriger als die maximale Hygroskopizität des Bodens ist und nahe an der Absterbefeuchtigkeit des Weizens (Sorte Nr. 11) liegt und zwar gleicherweise bei jungen wie bei alten Pflanzen. Von den untersuchten Leguminosenarten gingen nur *Vicia sativa* L. unterhalb der Grenze der maximalen Hygroskopizität ein, von den restlichen Pflanzen ging *Medicago sativa* L. annähernd bei maximaler Hygroskopizität, *Trifolium pratense* L. deutlich bei höherer Feuchtigkeit, sowie *Astragalus cicer* L., *Lupinus polyphyllus* LINDL., und *Lotus corniculatus* L. bei noch höherer Feuchtigkeit ein, die sich dem Absterbefeuchtigkeitsgrad der Sonnenblume nähert.

Die Untersuchungen an zwei- und dreijährigen Bäumchen ergaben folgende Absterbefeuchtigkeiten. Als Beispiel führen wir die Resultate einer Gruppe von Untersuchungen an, für welche sowohl einzelne wie auch mehrere verschiedenartige Einpflanzungen in einem Gefäss bei direkter Bestimmung der Bodenfeuchtigkeit vorgenommen wurden.

Die Versuche mit den angeführten Holzarten wurden in grösseren Gefässen (22 × 22 cm) durchgeführt und die Kontrolle der lebenden oder abgestorbenen Hölzer erfolgte 2 Monate nach dem Begiessen der letzten ausgetrockneten gefässe.

	Absterbefeuchtigkeits-Intervall
Fagus silvatica L.	5,76—7,88
Quercus cerris L.	6,06—6,72
Populus balsamifera L.	5,90—7,46
Picea excelsa (LAM.) LINK	5,47—6,82
Tilia sp.	5,90—6,45
Quercus borealis maxima MICHX.	5,72—6,01
Pinus silvestris L.	5,18—7,11
Quercus sessiliflora SALISB.	5,47—5,88
Quercus conferta KIT.	5,52—5,56
Quercus robur L.	5,52—5,57
Acer pseudoplatanus L.	5,09—5,85
Pinus nigricans HOST.	4,81—7,11
Robinia pseudoacacia L.	4,12—7,11
Gleditschia triacanthos L.	4,57—5,02
Fraxinus americana L.	4,12—5,22
Fraxinus oxycarpa WILLD.	4,47—4,88
Maximale Bodenhygroskopizität	4,50±0,08

Die Absterbe — Intervalle einiger Arten überdecken sich teilweise, jedoch unterscheiden sich die Arten, die bei niedriger Bodenfeuchtigkeit (in der Nähe der maximalen Hygroskopizität) zugrunde gehen, deutlich von denjenigen, die bei einer Feuchtigkeit absterben, welche weit über der maximalen Hygroskopizität liegt.

Ein ähnliches Resultat lieferten auch andere Gruppenversuche bei denen sich nur die Daten der Absterbefeuchtigkeit von *Quercus cerris* L. den niedrigeren Werten näherten, die von *Pinus silvestris* L. dagegen den höheren Werten; diese Abweichungen sind wahrscheinlich der noch unzulänglichen Methodik zuzuschreiben.

Es sind noch Untersuchungen zur Feststellung des genauen Ortes jeder Pflanzenart in der angeführten Reihenfolge notwendig, so zum Beispiel von *Acer pseudoplatanus* L., da mit dieser Art wenig Experimente durchgeführt worden sind u. a. Die erhaltenen Daten erlauben jedenfalls einige Schlüsse.

Die Versuche zeigen die interessante Tatsache, dass bei der niedrigsten Bodenfeuchtigkeit Pflanzenarten mit einem untief verbreiteten Wurzelsystem absterben, wie Esche, Robinie und Gleditschia. Ihre Abwehrwaffe im Kampfe mit der Bodentrockenheit ist ihre physiologische Dürreresistenz. Demgegenüber überwinden die (untersuchten) Arten mit tiefer eindringendem Wurzelsystem, in erster Linie also die Eichen, die sich durch eine geringere physiologische Dürreresistenz auszeichnen, also eine höhere Absterbefeuchtigkeit aufweisen, die Trockenheitsperioden, indem sie Feuchtigkeit aus den tieferen Bodenhorizonten beziehen (den tieferen Bodenhorizonten entziehen).

Wie bereits angeführt wurde, sind die untersuchten Gräser bei einer Bodenfeuchtigkeit eingegangen, die unter der maximalen Hygroskopizität lag. Die meisten untersuchten Baumarten jedoch gehen bei einer Feuchtigkeit zugrunde, die über der maximalen Hygroskopizität liegt. Dies steht im Einklang mit der Auffassung von WILJAMS über den Rückzug des Waldes vor dem Einbruch der Steppengraspflanzen in trockene Gebiete. WILJAMS, der ein Anhänger der Ansicht über die Unabhängigkeit der toten Reserve von der Pflanzenart war (Bd I. S. 35), erklärt diesen Rückzug durch ökologische Veränderungen unter dem Einfluss der im Walde eingebürgerten Graspflanzen (Bd. II, S. 152). Die durchgeführten Experimente liefern eine physiologische Erklärung seiner Theorie, welche von den beiden Erklärungen in den verschiedenen gegebenen Fällen zutrifft, ist zu bestimmen.

Die folgenden Zahlenangaben geben den Wassergehalt in Prozenten des absoluten Trockengewichtes im Holzstoff aus der Mittelhöhe des Stammes von fünfjährigen Bäumen an, die im Freien in Nester gepflanzt worden waren und zwar so, dass jedes Nest je eine Pflanze einer Art aufwies, d. h. nach Möglichkeit bei gleichartigen Bodenverhältnissen im Abstand von 2 Metern zwischen den Nestern. Die Bestimmung wurde in der trockensten Jahreszeit am 2. Oktober vorgenommen (STOJANOV 1959):

Fraxinus oxycarpa WILLD.	39,9%
Gleditschia triacanthos L.	41,1%
Quercus cerris L.	48,1%
Quercus robur L.	55,6%
Populus pyramidalis ROZIER	63,9%
Tilia platyphyllos SCOP.	88,9%
Pinus silvestris L.	139,1%

Die Aufstellung hat dieselbe Reihenfolge wie bei der Absterbefeuchtigkeit, nur dass Linde eine grössere Abweichung aufweist.

Petračič (1956) stellt die Vitalität der Bäumchen fest, indem er den Prozentsatz des Einwurzelns ermittelte, nachdem dieselben eine gewisse Zeit vor dem Einpflanzen ungeschützt gegen Feuchtigkeitsabgabe gehalten wurden. Die allergrösste Vitalität zeigten seinen Untersuchungen zufolge *Robinia pseudoacacia* L., *Fraxinus excelsiôr* L. und *Fraxinus americana* L., gefolgt von *Quercus pedunculata* Ehrh., *Quercus sessiliflora* Salisb., *Ulmus campestris* L. sowie *Sophora* L. und noch schwächer war die Vitalität von *Acer pseudoplatanus* L. wie auch besonders von *Fagus silvatica* L., d. h. es zeigte sich eine fast vollständige Übereinstimmung mit unseren Ergebnissen betreffend die Absterbefeuchtigkeit und den Feuchtigkeitsgehalt des Holzstoffes während der Trockenperiode.

Weiterhin wurden verschiedene Weizenarten und Sorten untersucht (Stojanov 1957a). Da die Differenzen zwischen den Daten der Absterbefeuchtigkeit zu gering sind, konnte die Methodik der direkten Messung der Bodenfeuchtigkeit keine Anwendung finden und es wurde aus diesem Grunde die Reihenfolge des Absterbens der in ein und dasselbe Gefäss ausgesähten verschiedenen Pflanzensorten gemäss den am Anfang der vorliegenden Arbeit erwähnten Experimenten festgestellt. Es wurden junge (15 bis 20 Tage alte) Pflanzen untersucht. Von den untersuchten Arten und Sorten ging bei höchster Bodenfeuchtigkeit *Triticum turgidum* L. ein, ihm folgte *Triticum durum* Desf. und danach *Triticum vulgare* Vill. Sorte Nr. 159. Bei der niedrigsten Bodenfeuchtigkeit gingen die Sorten Nr. 11 und Nr. 14 zugrunde, die restlichen Nr. 165, Nr. 301, Okerman und Sadowka nahmen eine mittlere Stelle ein, ohne dass eine detailliertere Abgrenzung bei der angewendeten Methodik gemacht werden konnte. Vielleicht würde dies bei strengerem Definieren der Experimentierbedingungen möglich sein, z. B. bei Berücksichtigung der Luftfeuchtigkeit, der Temperatur u. s. w. Wir stellen eine entsprechende Harmonie zwischen den ermittelten und den aus der Literatur bekannten Resultaten über die Dürreresistenz dieser Weizensorten fest (Popov, Pavlov und Popov 1954 u. a.). Wir nehmen an, dass diese Methodik bei der Selektion für die Auslese stärker abweichender Varianten Anwendung finden könnte. Als Beispiel führen wir einen unserer Versuche an:

Weizenart und -Sorte	Anzahl der überlebenden Pflanzen
Triticum durum Tschirpan 13	12
Triticum vulgare Nr. 14	25
Triticum turgidum Nevrokop	3
Triticum vulgare Nr. 301	18

Weitere Untersuchungen, welche in dieser Arbeit nicht erwähnt wurden, ergaben, dass die Absterbefeuchtigkeit auch durch verschiedene Chemikalien, Nährsalze, Spurenelemente u. a. beeinflusst werden kann (Stojanov 1955, 1957b). Andere Versuche taten wiederum dar, dass man die Absterbefeuchtigkeit durch Züchtung in verschiedener Dichte der Bestände bei reiner und gemischter Aussaat beinflussen könne (Stojanov 1958).

Zum Schluss ist es mir eine angenehme Ehrenpflicht Dr. Eva Petrů für ihre aufopfernde Hilfe zu danken, die sie meiner Abhandlung gewährte.

Literatur

Fedorowskij, D. V.: Zavisimost koeficienta zavjadanija ot vida rastenij i osmotičeskogo davlenija počvenogo rastvora. [Abhängigkeit des Welkungskoeffizienten von der Pflanzenart und dem osmotischen Druck der Bodenlösung.] — Potschvovedenije 1948 : 612—621, 1948.

Fowells, N. A., Kirk, B. M.: Availability of soil moisture to Ponderosa pine. — Jour. Forestry **43** : 601—604, 1945.

Kisselev, N. N.: Dürreresistenz und Saugkraft der Pflanzen. — Planta **23** : 760—773, 1935.

Maximov, L. A., Komiserko, E. S.: Vlijanije vlažnosti počvy na rost i fiziologičeskije procesy u rastenij. [Einfluss der Bodenfeuchtigkeit auf Wachstum und physiologische Vorgänge der Pflanzen.] — Pamjati akad. D. N. Prjaschnikova 1950 : 7—19, 1950.

Petračič, A.: Vitalitet sadnica sofore. [Vitalität der Sophorensetzlinge.] — Glasnik za šumske pokuse. — Zagreb 1956, Kn. 12.

Popov, A., Pavlov, K., Popov, S.: Rastenievodstvo [Pflanzenzüchtung]. Sofia 1954.

Stefanov, B., Stojanov, Ž.: Vărchu vlažnosta (koeficienta) na zagivaneto na rastenijata. [Über die Absterbefeuchtigkeit der Pflanzen.] — Izvestija na biologičeskija institut na BAN (gorska biologia). — Bull. Inst. Biol. **4** : 305—373, 1953.

Stojanov, Ž.: Vlijanie na njakoi soli vărchu vodnija režim na rastenijata (transpiracija, vlažnost na uvjachvane, vlažnost na zagivane). [Der Einfluss einiger Salze auf der Wasserregime der Pflanzen (Transpiration, Welkungsfeuchtigkeit, Absterbefeuchtigkeit)]. — Izvestija na instituta za gorata na BAN — Sofia (Bull. Inst. Forêts) **1** : 197—232, 1955.

Stojanov, Ž.: Vlažnost na zagivane na razlitschni vidove i sortove pschenici. [Absterbefeuchtigkeit verschiedener Weizen-Arten und Sorten.] — Izvestija na instituta za gorata na BAN — Sofia (Bull. Inst. Forêts) **2** : 511—517, 1957a.

Stojanov, Ž.: Izutschvanija vărchu vlijanieto na razlitschni chimikali vărchu vodnija režim na rastenijata. [Untersuchungen über den Einfluss verschiedener Chemikalien auf den Wasserhaushalt der Pflanzen.] — Izvestija na instituta za gorata na BAN — Sofia (Bull. Inst. Forêts) **2** : 397—435, 1957b.

Stojanov, Ž.: Izutschvanija vărchu vegetativnata produkcija i vodnija režim na rastenijata, otgleždani v razlitschni gastoti, pri tschist i smesen posev. [Untersuchungen über die vegetative Produktion und den Wasserhaushalt in verschiedener Dichte bei reiner und gemischter Aussaat gezüchteter Pflanzen.] — Izvestija na instituta za gorata na BAN — Sofia (Bull. Inst. Forêts) **3** : 73—111, 1958.

Stojanov, Ž.: Kăm văprosa za sădăržanieto na voda kato indikator za suchousto ptschivostta na rastenijata. [Zur Frage des Wassergehalts als Indikator der Dürrebeständigkeit der Pflanzen.] — Izvestija na instituta za gorata na BAN — Sofia (Bull. Inst. Forêts) **5** : 149—162, 1959.

Stone, E. C., Fowells, H. A.: The survival value of dew as determined under laboratory conditions. I. Pinus ponderosa. — Forest Sci. **1** : 183—188, 1955.

Stone, E. C.: Dew absorption by conifers. In Thiman K. V.: The Physiology of Forest Trees, pp. 125—151. — New York 1958.

Tumanov, I. I.: Ungenügende Wasserversorgung und das Welken der Pflanzen als Mittel zur Erhöhung ihrer Dürreresistenz. — Planta **3** : 391—480, 1927.

Veihmeyer, F. J.: Soil moisture. — Hdb. Pflanzenphys. **3** : 64—123, 1956.

Wiljams, W. R.: Potschvovedenije [Bodenkunde]. Izbrannyje sočinenija v dvuch tomach. — Moskva 1949.

Anschrift des Verfassers: Žarko Stojanov, Institut za gorata na BAN, kv. Stalin, ul. IV Sofia, Bulgaria

BIOL. PLANT. 2 (2) : 79—87, 1960

Влажность почвы, при которой растения отмирают

Жарко Стоянов

Институт леса Болгарской Академии наук, София

Резюме

В работе описан простой метод, при помощи которого возможно вполне объективно определить критическую влажность почвы, при которой растения отмирают, в отличие от определения точки увядания, которое сопровождается субъективной ошибкой.

Опыты с подсолнечником, фасолью, кукурузой, пшеницей, гречихой, злаками, лесными культурами и разными видами и сортами пшеницы показали, что влажность почвы, при которой растения отмирают, у разных видов и сортов различна. Приводятся ссылки на другие работы автора (*Стоянов* 1955, 1957в и 1958), в которых показано, что данная критическая влажность меняется как в зависимости от густоты насаждения в монокультурах, так и в зависимости от состава насаждения в смешанных культурах, и дальше в зависимости от различных химических веществ и их концентрации.

Величины почвенной влажности, при которой растения отмирают, точнее точки постоянного увядания, важны не только для выживания растений во время засухи, но оказывают, повидимому, влияние и на урожай даже в тех случаях, когда не достигнуто данных значений почвенной влажности. Эти данные корреспондируют с данными исследований Максимова и Комисерка, которые показали, что рост растений определяется также разной влажностью даже в интервале выше точки доступности почвенной влажности.

BIOLOGIA PLANTARUM (PRAHA)

2 (2) : 88—97, 1960

Humic Acid Interactions in the Growth Process

JIŘÍ ŘEŘÁBEK

Department of Plant Physiology and Soil Biology, Faculty of Natural Sciences, Charles University, Praha

Received July, 8 1959

Souhrn

Charakteristickým rysem působení huminových kyselin na růst rostlin je stimulace prodlužování kořenů, vysvětlovaná někdy auxinoidní povahou těchto látek.

Autor prověřil tento předpoklad testem na odřezcích koleoptile pšenice a hypokotylu lnu. Růst odřezků obou typů se v roztocích humátu draselného o koncentraci 10^{-1} až 10^{-7} g/l ve srovnání s kontrolním růstem ve vodě nezměnil.

Dále byla studována interakce huminových kyselin s auxiny. Průběh růstové křivky odřezku do koncentrací auxinu kolem 20 mg/l (len) nebo 50 mg/l (pšenice) přítomnost humátu v testovaném roztoku v koncentraci 10^{-1} g/l neměnila. Při vyšších koncentracích auxinu byl růst odřezků v roztocích auxin-humát podstatně vyšší než v roztoku samotného auxinu. Efekt se snižoval se stoupající koncentrací auxinu (kyselina β-indolyloctová a α-naftyloctová).

Auxinoidní charakter ve vodě rozpustných solí huminových kyselin ani kompetitivní antagonismus ve smyslu koncepce antiauxinu nebyl prokázán.

Summary

A characteristic feature of the effects of humic acids on plant growth is the stimulation of growth in length of the roots. This is sometimes explained as being due to the auxinoid nature of the acids.

The author has examined this assumption by testing segments of wheat coleoptiles and of flax hypocotyls. The growth of segments of both types remained unchanged in solutions of potassium humate in concentrations of 10^{-1} to 10^{-7} g./l. as compared with the controls in water.

A study was also made of the interaction of humic acids with auxins. The growth curves of segments in concentrations of auxin up to about 20 mg./l. (flax) or 50 mg./l. (wheat) were not altered by the presence of a 10^{-1} g./l. concentration of humate in the test solution. With higher concentrations of auxin the growth of the segments in auxin-humate solutions was considerably greater than in solutions containing auxin alone. The effect decreased with rising concentrations of auxins (β-indoleacetic acid and α-naphthylacetic acid).

The auxinoid character of salts of humic acids in water solution was not established, nor was there any confirmation of competitive antagonism in the sense of the antiauxin conception.

Introduction

The favourable effect of humus substances on plant growth has been known for a long time. Root growth is most strongly influenced, the overground parts to a lesser extent. In spite of the fact that considerable efforts have been made to throw some light on the nature of the effects produced by these substances, we have as yet no satisfactory explanation of the mechanism of their action. A number of theories have been advanced, but they have not yet been adequately tested by experiment and are, indeed, often in conflict with facts obtained during the examination of other problems of growth.

However, it would seem that closer attention should be paid to those opinions which regard humus substances as being growth substances. This assumption is already to be found in Bottomley's work (1917, 1920). This author considered that the active components of humus substances are auximones, i.e. compounds presumably related to the later-discovered auxins. Essentially the same point of view was later held by other authors (Bassalik and Neugebauer 1933, Kuthy and Pecznik 1941, Chaminade and Boucher 1955). Compounds similar to auxins were found in peat, water extracts of which also have a favourable effect on plants. Recently, Flaig and Breyhan (1956) have identified indole derivatives in the hydrolysate of humic acids from chernozem. However, we still have no convincing proof of the auxinoid character of humus substances, because they have not been examined by means of the tests commonly used for determination of the activity of growth substances. Only Paszewski, Trojanowski and Łobarzewski (1957) have tested the chromatographically separated components of the alcoholic fraction of humus with positive results on wheat coleoptiles; this fraction as a whole was, however, inactive.

Further, the question of the stimulation of root growth by auxins is still doubtful. In view of this it would be more justified to compare humus substances to antiauxins, one property of which is their favourable effect on root growth.

Experimental investigation of these two assumptions is the aim of the present work.

Material and Methods

The activity of humic acids and their interaction with auxins was determined using segments of etiolated wheat coleoptiles and flax hypocotyls.

The test on wheat coleoptiles was carried out in the normal way. Following 24 hours' swelling in water, wheat grains (*Triticum vulgaris* L. var. Pyšelka) were grown in the dark in damp lime-tree sawdust. Segments of 10 mm. in length were cut off from coleoptiles of similar length (20 to 40 mm. according to the experiment). The first incision was made 2 mm. below the tip of the coleoptile. Equality of length of the segments was ensured by cutting nine at a time with a knife composed of two razor blades fixed at a distance of 10 mm. from each other (Bentley and Housley 1954). Twenty-five to thirty segments were tested for 12 to 36 hours in 25 ml. solution in Petri dishes. The leaves of the segments were not removed and they floated freely in the solution. The number of segments in a dish was established according to the course of Fig. 1 in such a way that the variability of their growth was eliminated. Following the test, the segments were slightly curved, which made direct microscopic measurement of their length very difficult and inaccurate. The outlines of the segments were, therefore, projected on to photographic paper with a 3·5 enlargement. After development the lengths were measured by means of a flexible rule with an accuracy of 0·5 mm.

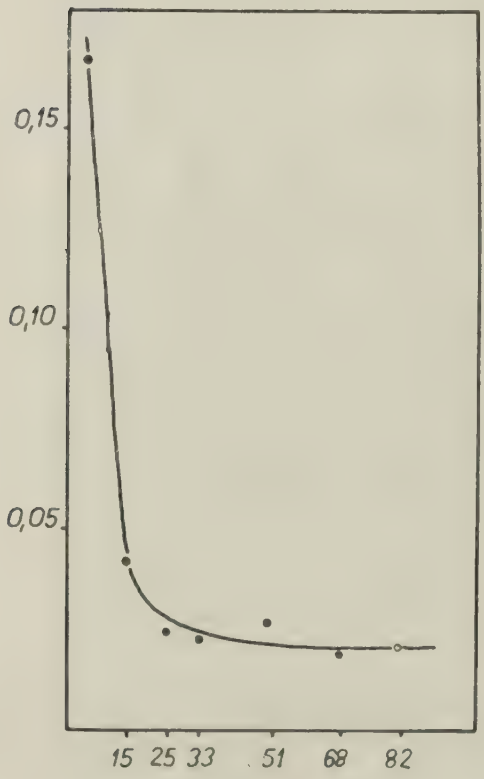


Fig. 1. Dependence of magnitude of standard error of average length of coleoptile segments on number of individuals in set. Ordinate: standard error of average, in mm. gain in 24 hours. Average growth increase of segments in water = 1·50 ± $^{1}/_{20}$ mm. 24 hours. Abscissa: number of individuals in given set.

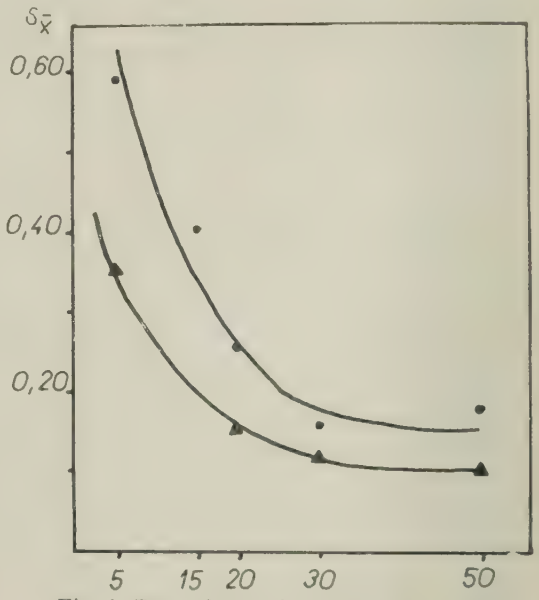


Fig. 2. Dependence of standard error of average length of flax hypocotyl segments on number of individuals in set. 10 mm. segments, 24 hours at 24° C. ● — ● segments in distilled water (av. length 12—13 sections); ▲ — ▲ segments in α-naphtylacetic acid solution 50 mg./l. (av. length 14—15 sections). Ordinate: standard error of average of sections. Abscissa: number of individuals in set.

Test with flax hypocotyls (*Linum usitatissimumt* var. Viera), Flax roots are suitable as material for testing growth substances (Åberg 1950). It was found in our experiments that segments of etiolated hypocotyls also react to the presence of auxins in the test solution. The method of cultivation has been described by Åberg (1950). The period was prolonged to 36 to 40 hours. At the end of this period the hypocotyls measure 15—30 mm. Hypocotyls of equal lengths of 20—25 mm. are selected and their tips are removed about 2 mm. below the bend. A segment measuring 10 mm. is then cut off from the remaining part as in the case of the coleoptiles. The further procedure was similar to that for the test using coleptiles. Fig. 2 shows

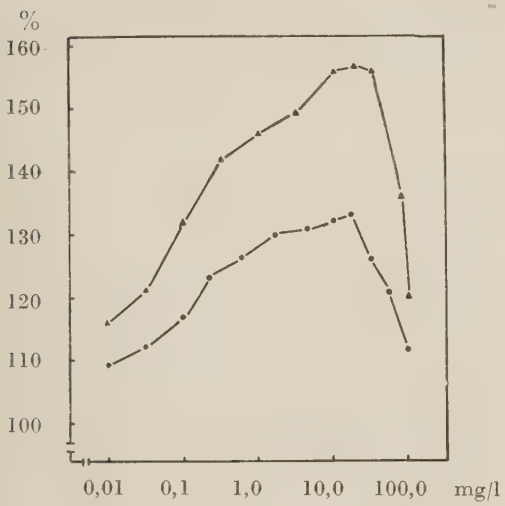
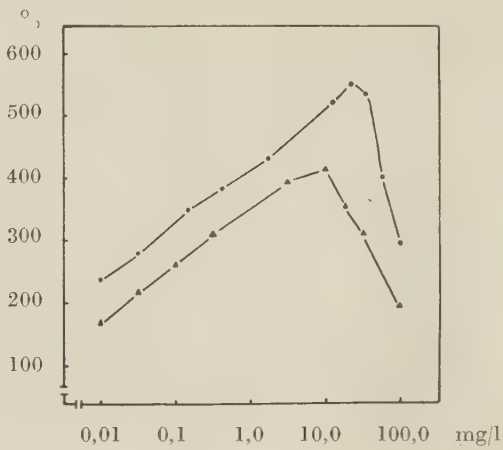


Fig. 3. Growth (24 hours, 24° C) of wheat coleoptile (▲—▲) and flax hypocotyl (●—●) segments in β-indoleacetic acid. Ordinate: length as percentage of control length. Abscissa: auxin/l.

Fig. 4. Growth (24 hours, 24° C) of wheat coleoptile (▲—▲) and flax hypocotyl (●—●) in β-indoleacetic acid. Ordinate: gain in length as percentage of control gain. Abscissa: mg. auxin/l.



that 25 to 30 segments in 25 ml. of solution are necessary for one experimental variant. The period of the test was 24 hours. Measurement of the segments was carried out in a different way. After development of the enlargement of the outlines on photographic paper, lengths were measured by means of sections marked along one side of the photographic outlines with a small cog-wheel. One section corresponds to 1·11 mm. actual length.

Growth of the plants and of the segments was carried out in both cases in the dark at a temperature of 24° C. The segments were cut in orange light (photo-bulb AGFA-ORANGE).

The growth curve obtained for the hypocotyl segments follows the same course as that for coleoptile segments. If the effect of β-indoleacetic acid is expressed as a percentage of the lengths of control segments in distilled water, the segments of flax hypocotyls show a sensitivity in their reaction to auxins of up to one-half less than the coleoptile segments. (Fig. 3.) The increase in length of the segments expressed as a percentage of the increase of the control in water are, however, always higher for flax hypocotyls (Fig. 4). This is mainly due to the slight growth of the control hypocotyl segments, which show a maximum increase of 8 to 10% of their original length after 24 hours. The first procedure is more frequently used and therefore the further results have been dealt with in that way.

Preparation and application of humus acids. Two kinds of basic material were employed:

1. Trade preparation Humussäure, manufactured by Riedel-Haën, Hannover.
2. Humic acid fraction of oxyhumolite from the mine Osvobození at Řetenicích, south-west Bohemia.

The humic acid fraction was prepared as follows: 500 g. of oxyhumolite was extracted for 45 min. at room temperature with 2500 ml. of 0·1 N KOH with occasional shaking. The in-

soluble matter was removed by filtration through glass wool and 200 ml. of concentrated HCL was added to the filtrate. After centrifuging, the coagulate was washed with distilled water until ions of Cl′ had been removed and was then dried at reduced pressure at 30 to 40° C.

The fraction and the Humussäure preparation both contain considerable amounts of substances which are soluble in ethanol. Both preparations were converted to potassium salts by solution in 0·1 N KOH, dialysis with distilled water and evaporation at reduced pressure at 30 to 40° C. These salts are suitable for application in both tests as they are very readily soluble in water. They will be referred to as K-humate Ox (from Osvobození) and K-humate R (from Humussäure).

Auxins used: β-indoleacetic acid (Merck) and α-naphthylacetic acid (Lachema, Brno). The test solutions were prepared by dissolving the substances in redistilled water. The pH values of the solutions did not differ from one another and ranged between 5·0 to 5·2 before and after the test. The water control had the same value.

Results

Segments from coleoptiles of different lengths were tested in solutions of both K-humates. The concentrations used were those which according to published results have a positive effect on growth in root length. Several repetitions of the experiments were made and in addition the growth of the segments was measured at intervals of 12, 24 and 36 hours. The results given in the tables were worked out by analysis of variance. The values of the F-test for the factors involved in the experiment are appended.

Tables 1, 2 and 3 give the growth of coleoptiles. For greater clarity a value C is also given, i.e. the length of segments of the different variants as a percentage of length of control segments. Neither of the humates affected the growth of the segments, for in no case were the differences, amounting to 5 to 6% of the control length, significant. The growth of flax hypocotyl segments also remained unchanged by the application of humates (Table 4).

Table 1. Growth of wheat coleoptile segments in K-humate solutions. 10 mm. segments from 20—25 mm. coleoptiles. Period of test 12—36 hours. Values in mm. = actual length x 3·5 . C = % control

K-humate		12 hours		24 hours		36 hours	
		mm.	C	mm.	C	mm.	C
Control		41·33	100·0	57·88	100·0	62·57	100·0
10^{-5} g./l.	Ox	40·03	96·8	59·88	103·4	—	—
	R	41·00	99·2	58·86	101·8	63·92	102·1
10^{-3} g./l.	Ox	40·03	96·8	56·79	98·1	—	—
	R	39·40	95·3	56·85	98·2	63·00	100·6
10^{-1} g./l.	Ox	42·57	103·0	61·30	105·9	—	—
	R	39·84	96·3	59·52	102·8	62·94	100·5

Analysis of variance: Ox for concentration $F = 1{\cdot}44$ $P > 0{\cdot}05$
for hours $F = 205{\cdot}28$ $P < 0{\cdot}01$
R for concentration $F = 2{\cdot}20$ $P > 0{\cdot}05$
hours $F = 416{\cdot}17$ $P < 0{\cdot}01$

Table 2. Growth of wheat coleoptile segments in K-humate solution Ox 10^{-1} g./l. 10 mm. segments from 30—35 mm. coleoptiles. Period of test 12—36 hours. Values expressed as in Table 1

	12 hours		15 hours		24 hours		36 hours	
	mm.	C	mm.	C	mm.	C	mm.	C
Control	39·00	100·0	50·82	100·0	60·14	100·0	58·48	100·0
10^{-1} g./l.	39·50	101·2	48·25	94·1	57·46	95·5	58·70	102·3

Analysis of variance: for concentration $F = 4{\cdot}20$ $P > 0{\cdot}05$
for hours $F = 176{\cdot}19$ $P < 0{\cdot}01$

Table 3. Growth of wheat coleoptile segments in K-humate solution Ox 10^{-1} g./l. 10mm. segments from 40—45 mm. coleoptiles. Period of test 12—36 hours. Values expressed as in Table 1

	12 hours		24 hours		36 hours	
	mm.	C	mm.	C	mm.	C
Control	47·45	100·0	61·60	100·0	58·65	100·0
10^{-1} g./l.	46·52	98·0	61·70	100·1	61·36	104·6

Analysis of variance: for concentration $F = 1$ $P > 0{\cdot}05$
for hours $F = 8{\cdot}95$ $P < 0{\cdot}05$

Table 4. Growth of flax hypocotyl segments in K-humate solutions of varying concentration. 10 mm. segments from 20—25 mm. hypocotyls. Period of test 24 hours. Values in sections = = actual length x 1·11. C = % of control

	K-humate Ox				K-humate R			
	Sections		Average Sections	C	Sections		Average Sections	C
Control	11·88	11·88	11·88	100·0	12·26	11·87 11·87	12·00	100·0
10^{-7} g./l.	12·00	11·81	11·90	100·1	12·50	11·68 11·86	12·01	100·0
10^{-5} g./l.	11·88	11·96	11·92	100·3	12·53	11·70 12·07	12·01	100·0
10^{-3} g./l.	11·69	11·71	11·70	98·4	12·21	11·69 12·11	12·00	100·0
10^{-1} g./l.	12·00	11·73	11·86	98·8	12·50	11·85 12·17	12·17	101·4
	Exp.	27A, 27B			4	28A 28B		

Analysis of variance: for concentration $F = 1{\cdot}2$ $P > 0{\cdot}05$

In the following experiments interaction between humate and the two auxins was followed. The humate concentration was constant in all experiments, while the auxin concentration changed. There resulted concentration curves for β-indoleacetic acid or α-naphtylacetic acid alone or mixed with humate at a concentration of 10^{-1} g./l. The values entered on the graph are

the averages of at least three experiments and for each variant, as in the previous experiments, 25 to 30 segments were allowed for. Each average, therefore, represents the growth of approximately 70 to 90 segments.

Fig. 5 and 6 give results for coleoptiles. While at lower auxin concentrations in the mixture the humates showed no influence, at concentrations

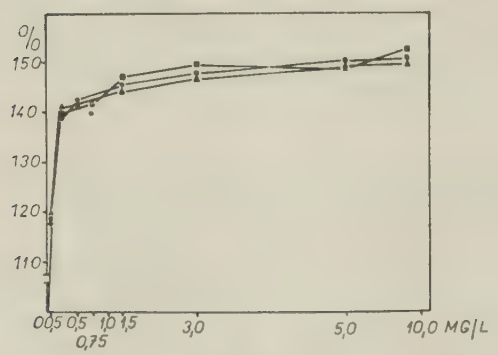


Fig. 5. Growth of wheat coleoptile segments in β-indoleacetic acid (●—●) and in this solution with K-humate Ox 10^{-1} g./l. (▲—▲) and R 10^{-1} g./l. (■—■). 10 mm. segments from 20 to 25 mm. coleoptiles. Period of test 24 hours at 24° C. Ordinate: % of length of control. Abscissa: auxin concentration in mg./l.

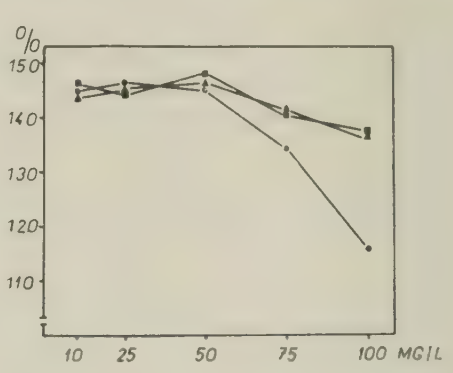


Fig. 6. Growth of wheat coleoptile segments in β-indoleacetic acid (● ●) and in this solution with K-humate Ox 10^{-1} g./l. (▲—▲) and R 10^{-1} g./l. (■—■). See Fig. 5.

above 50 mg./l. auxin activity was altered. The effect of the humate was evident in more intense growth of segments in the solution of the two substances. Differences were significant at concentrations over 75 mg. l. of the test auxin, i.e. β-indoleacetic acid. No difference was found between the effects of the two humates.

Humate was tested on hypocotyl segments with β-indoleacetic acid and α-naphtylacetic acid. Both auxins exhibit a typical effect on the growth of the segments. α-naphtylacetic acid is somewhat less active at lower concentrations; at concentrations over 30 to 40 mg. l. growth in this solution is also lower than in β-indoleacetic acid solutions of equal concentration (Fig. 7 and 9). The effect of the humate does not differ from that in the experiments with coleoptiles. Low auxin concentrations, in this case about 20 to 25 mg. l., are not affected by either of the humates, while the effect in supra-optimal concentrations is again decreased. (Fig. 8. and 10). Differences in growth are, however, somewhat greater than in the experiment with coleoptile segments.

Reduction in auxin activity at super-optimal concentrations is strongly dependent on humate concentration. A concentration of 10^{-1} g. l. is fully effective. A solution diluted by 100 is ineffective.

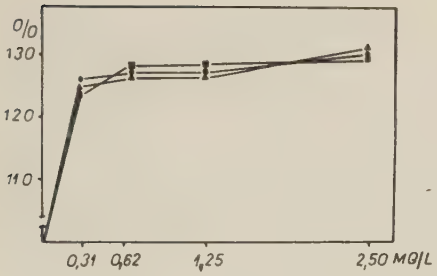
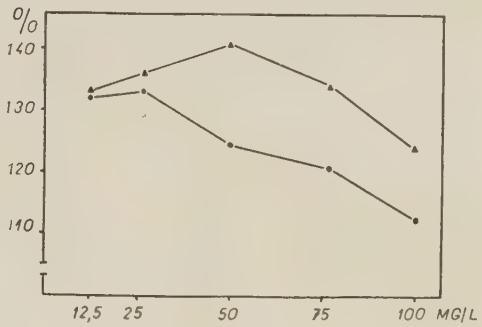


Fig. 7. Growth of flax hypocotyl segments in β-indoleacetic acid (●—●) and in this solution with K-humate Ox 10^{-1} g./l. (▲—▲) and R 10^{-1} g.W. (■—■). See Fig. 8.

Fig. 8. Growth of flax hypocotyl segments in β-indoleacetic acid (●—●) and in this solution with K-humate Ox 10^{-1} g./l. (▲—▲). Segments from 20—25 mm. hypocotyls. Period of test 24 hours. Ordinate: % of control length. Abscissa: auxin concentration in mg./l.



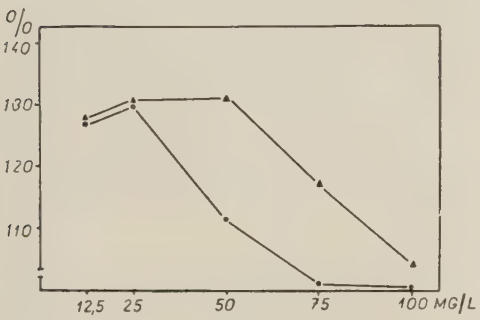


Fig. 9. Growth of flax hypocotyl segments in α-naphtylacetic acid (●—●) and in this solution with K-humate Ox 10^{-1} g./l. (▲—▲). See Fig. 8.

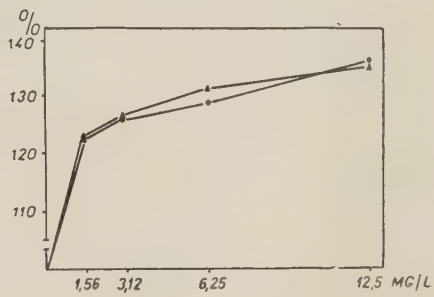


Fig. 10. Growth of flax hypocotyl segments in α-naphtylacetic acid (●—●) and in this solution with K-humate Ox 10^{-1} g./l. (▲—▲). See Fig. 8.

Discussion

As has already been mentioned in the introduction, many authors have assumed that there is an analogy between the effect of humus substances, particularly humic acids, and that of auxins. But the criterion for regarding any compound as an auxin is a positive result with some of the tests used for determining the activity of growth substances. Therefore, it was necessary to treat the humic acids in this way, too. The present experiments have established that this fraction completely lacks the properties of auxins. Growth of segments of wheat coleoptiles and flax hypocotyls was unaltered following the application of a wide range of concentrations of K-humates of various origin. This is in agreement with the results of Paszewski, Trojanowski

and Łobarzewska (1957), who also used coleoptiles to test the alcoholic fractions of peat and compost humus. The fractions as a whole were also inactive. It is interesting, however, that the chromatographically separated components acted on the curving of the longitudinal parts of cut coleoptiles in a similar way to β-indoleacetic acid.

In opposition to the view that humic acids act on plants like auxins is also the fact of the qualitative difference in the effect of these substances on root growth. While it has been repeatedly demonstrated that humic acids have a favourable effect on root growth, the primary characteristic of auxins is that they inhibit this growth. Stimulation by very low concentrations has not yet, according to Åberg (1957), been reliably demonstrated as a general phenomenon. Auxins do not affect the growth of algae (Lhotský 1952), while humus substances act as strong stimulants (Lhotský 1954, Prát 1955). These differences, particularly as regards roots, indicate an analogy with another group of growth substances—the antiauxins, which also strongly accelerate root growth. They are, however, also characterized by the fact that in various tests they reduce the effect of externally applied auxins (Åberg 1950, Burström 1950, Van Overbeek et al. 1951). This interaction is particularly evident with sub-optimal concentrations of auxin. It has been found that humic acids do not alter the effect of these concentrations. The growth activity of super-optimal concentrations is, however, considerably reduced by humate. The growth of segments in a solution containing auxin and humate is definitely greater than in a solution of auxin alone. Typical antiauxins, such as 1-naphtylmethylsulphidepropionic acid (Åberg and Khalil 1953) or 4-chlorphenoxyisobutyric acid (Foster et al. 1955), do not alter the activity of such concentrations of auxin, insofar as they are not applied in toxic amounts.

The humate-auxin relation, insofar as it has been followed in tests with overground plant parts, does not show a typical antiauxinoid character. The real nature of the relation between the two substances at super-optimal concentrations of auxin, when humate antagonizes its growth activity, remains, however, a problem. The results obtained so far will have to be amplified by investigation of interaction in a suitable root test. It is also necessary to find out whether this action is reversible following further applications of auxin.

References

Åberg, B.: On auxin antagonists and synergists in root growth. — Physiol. Plant. **3** : 447—461, 1950.

Åberg, B., Khalil, A.: Some notes on the effect of auxin antagonists and synergists upon coleoptile growth. — Kungl. Lantbrukshögskolans Annaler **20** : 81—103, 1953.

Åberg, B.: Auxin relations in roots. — Ann. Rev. Plant Physiol. **8** : 153—180, 1957.

Andreae, W. A., Andreae, S. R.: Studies on indoleacetic acid metabolism I. The effect of methyl umbelliferone, maleic hydrazide and 2,4-D on indoleacetic acid oxidation. — Canad. J. Bot. **31** : 426—437, 1953.

Bassalik, K., Neugebauer, J.: Über die „Stimulation" von Azotobacter durch Eisen. — Acta Soc. Bot. Pol. **10** : 481—493, 1933.

Bentley, J. A., Housley, A.: Bio-assay of plant hormones. — Physiol. Plant. **7** : 405—419, 1954.

Bottomley, W.: Some effects of organic growth-promoting substances (auximones) on the growth of Lemna minor in mineral culture solutions. — Proc. Royal Soc., Ser. B. **89** : 481, 1917.

Bottomley, W.: The effect of organic matter on the growth of various plants in culture solutions. — Ann. of Botany **34** : 353—365, 1920.

Burström, H.: Studies on growth and metabolism of roots. IV. Positive and negative auxin effects on cell elongation. Physiol. Plant. **3** : 277, 292, 1950.

Chaminade, R., Boucher, J.: Recherches sur la présence de substances rhizogénes dans certains milieux naturels. — Compt. Rend. Acad. Agric. de France **26** : 66, 1940.

Flaig, W., Breyhant, T.: Über das Vorkommen von Indolverbindungen in Schwarzerde-Huminsäuren. — Ztschr. f. Pflanzenernähr., Düngung und Bodenk. **75** : 132—135, 1956.

Foster, R. J., McRae, D. H., Bonner, J.: Auxin-antiauxin interaction at high auxin concentrations. — Plant Physiol. **30** : 323—327, 1955.

Kuthy, A., Pecznik, J.: Wirkt die Huminsäure als Hormon oder durch Permeabilitätserhöhung auf die Entwicklung der Pflanzenwurzeln. — Bodenkunde und Pflanzenernährung **23** : 83—90, 1941.

Lhotský, S.: Studie biologické aktivity zemitého hnědého uhlí, tak zvaného kapucínu na kulturách řas. [A study of the biological activity of so-called capucine brown coal on algal cultures]. — Universitas Carolina, Biologica **1** : 155—213, 1955.

Lhotský, S.: Řasy jako testovací materiál. [Algae as test material.] — Čs. biologie (Praha) **3** : 45—48, 1954.

Paszewski, A., Trojanowski, J., Łobarzewska, A.: Wpływ frakcji humusowych na wzrost koleoptile owsa. [Influence of the humus fraction on the growth of oats coleoptile.] — Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska **12** : 1—13, 1957. Lublin, Poland.

Prát, S.: Vliv humusových látek (kapucínů) na řasy. [Influence of humus substances (capucines) on algae.] — Čs. biologie (Praha) **4** : 535—541, 1955.

Van Overbeek, J., Blondeau, R., Horne, V.: Transcinnamic acid as an antiauxin. — Amer. J. Bot. **38** : 589—595, 1951.

Address: Jiří Řeřábek, prom. biol., Katedra fysiologie rostlin a půdní biologie přírodovědecké fakulty K. U. Praha 2 - Nové Město, Viničná 5

BIOL. PLANT. 2 (2) : 88—97, 1960

Влияние гумусовой кислоты на рост растений

Иржи Ржержабек

Кафедра физиологии растений и биологии почвы Естественного факультета Карлова Университета, Прага

Резюме

Характерной чертой действия гумусовых кислот на рост растений является стимуляция роста корней в длину, которая иногда объясняется тем, что эти вещества имеют характер ауксиноидов.

Автор проверил это предположение опытами на отрезанных частях колеоптиля пшеницы и гипокотиля льна. Рост частей того и другого типа в растворах гумата калия с концентрацией 10^{-1}—10^{-7} г/литр не отличался от роста контрольных частей в воде.

Далее изучалось взаимодействие гумусовых кислот и ауксинов. Ход кривой роста отрезанных частей в растворах ауксина с концентрацией до 20 мг/л (лен) или 50 мг/л (пшеница) не зависел от присутствия в растворе гумата в концентрации 10^{-1} г/л. В случае более высоких концентраций ауксина рост отрезанных частей в растворах ауксин-гумат был значительно выше, чем в растворах одного ауксина. Однако, с дальнейшим ростом концентрации ауксина (индолилуксусная и нафтилуксусная кислоты) эти различия проявлялись все слабее.

Таким образом, не удалось доказать ни ауксиноидный характер воднорастворимых солей гумусовых кислот, ни компетитивный антагонизм в соответствии с представлениями об антиауксине.

BIOLOGIA PLANTARUM (PRAHA)

2 (2) : 98—106, 1960

Транспорт радиофосфата в корнесобственных и привитых деревьях после введения P^{32} в кеилему корня

Лудвик Хвойка, Арношт Бабицкы

Отдел физиологии растений Биологического института ЧСАН, Прага
Изотопная лаборатория Биологического института ЧСАН, Прага

Поступило 10 сентября 1959

Souhrn

Biologický efekt místního hloubkovébo hnojení stromů fosfáty závisí mimo jiné na lokalisaci resorbovaného fosfátu v koruně stromu. Cílem této práce bylo studium transportu a lokalisace radiofosfátu v pravokořenných a štěpovaných ovocných stromech po zavedení P^{32} do vodivých pletiv kořene. Pokusnými objekty byly štěpované plodící jabloně ve věku 6—8 let (24 kusy), pravokořenné 5—6leté jabloně (20 kusů), pravokořenné 4—6leté slivoně, a štěpované 4—6leté meruňky.

Stejně jako při dělené výživě (Belavin, 1958) radiofosfát podaný injekcí byl transportován do většiny větví koruny, avšak velká jeho část se lokalisovala v několika větvích koruny stromu. Po dvouměsíční exposici nedochází k vyrovnání koncentrace radiofosfátu mezi hlavními větvemi koruny. Po uplynutí 2 až 2,5 měsíců se radiofosfát nachází již také v kořenech sektoru na protější straně od místа podání. Metodou autoradiografie bylo zjištěno, že radiofosfát je transportován určitou částí xylému kmene.

Резюме

Биологическое значение глубокого внесения фосфорных удобрений очагами под плодовые деревья зависит прежде всего от размещения фосфора в кроне дерева. Целью наших исследований было определение транспорта и локализации радиофосфата в корнесобственных и привитых плодовых деревьях после введения P^{32} в кеилему корня. Опыты проводились на привитых плодоносящих яблонях 6—8 летнего возраста (24 штуки), на корнесобственных 5—6 летних яблонях (20 штук), на корнесобственных 4—6 летних сливах и привитых 2—6 летних абрикосах.

Так же как и в опытах с очаговым минеральным питанием (Белавин, 1958), радиофосфат введенный в ксилему отдельного корня транспортируется почти во все ветви кроны, но бóльшая часть радиофосфата накапливается в нескольких сучьях кроны дерева. Концентрация радиофосфата не выравнивается между главными сучьями кроны даже после истечения двухмесячного срока, когда радиофосфат находится в большом количестве и в корнях противолежащего сектора от места введения в корень. Методом ауторадиографии было показано, что радиофосфат транспортируется определенной частью ксилемы ствола.

Введение

Минеральное питание плодовых деревьев имеет свои отличительные закономерности, которые вытекают из глубокого размещения корней и долговечности деревьев. Задерненные плодовые насаждения (на склонах, у дорог итп.) лучше используют фосфорные удобрения внесенные глубже в зону размещения всасывающих корней, так как при поверхностном внесении большая часть фосфатов адсорбируется физически почвой и биологически микрофлорой и травянистым покровом. Местное глубокое внесение фосфорных удобрений (в шурфы, борозды, ямы итп.) изучалось рядом авторов. Так напр. Колесников (1958) установил, что самое быстрое (на 4-й день) и самое интенсивное поступление меченого фосфата имело место при условии очагового внесения удобрений в ямы глубиной 30—40 см с добавлением воды. Меньше фосфора поступило при заделке на 15—20 см и еще меньше — на 5—7 см. Спиваковский (1956) нашел, что внесение удобрения в очаг обеспечивает питание отдельных ветвей, с которыми связяны корни данного очага, из чего вытекает необходимость равномерного размещения очагов с удобрениями на площади питания плодового дерева. В литературе можно найти много данных различных авторов (напр. Евдокимова, 1955; Зеленская, 1958; Farrar по Spinks, 1953), которые свидетельствуют о наличии относительно автономной связи между питающим корнем и определенной ветвью.

В наших опытах мы определяли транспорт и размещение радиофосфора в корнесобственных и привитых плодовых деревьях после введения большой дозы: 0,5—10 мС радиофосфата в корень дерева и это дало нам возможность измерять радиоактивность органов дерева по истечении 8 и больше недель.

Материал и методика

Опытными объектами были плодовые деревья в условиях полевого опыта. Главные опыты были проведены на 24 плодоносящих деревьях яблони Онтарио 6—8 летнего возраста, привитых на М I подвой и на 20 корнесобственных 5—6 летних деревьях (в большинстве Пармен зимний золотой; физиологически похож на сорт Онтарио). В июне и июле был введен в эти 44 деревья раствор 2—10 мг фосфорнокислого калия, меченого около 0,5 мС P^{32}. Нейтральный раствор был введен в ксилему корня (диа-

метр 5—8 мм) при помощи резиновой трубки надетой на отрезанный опытный корень, или опытный раствор был введен в круглое отверстие корня при помощи стеклянной трубки диаметра 4—5 мм.

На второй шестой день после введения было определено размещение радиофосфата во всех главных сучьях кроны следующим образом: из каждой ветви первого порядка ветвления были взяты 4 пробы листьев из укороченных плодовых веточек — как это показано схематически: схема № 1 (пробковым ножом вырезались диски, сухой вес которых составлял в среднем 6 мг). Сразу после отбора проб была измерена радиоактивность торцовым счетчиком Гейгера-Мюллера при соблюдении стандартных условий измерения. Из одного дерева было одновременно отобрано и измерено как правило 40—60 проб, радиоактивность которых колебалась от нуля до нескольких тысячь импульсов в минуту после поправки на фон счетчика, который был равен 25—30 имп. в мин. Результаты измерений были отнесены к сухому весу листьев и в зависимости от уровня радиоактивности ветви были разделены в 5 групп.

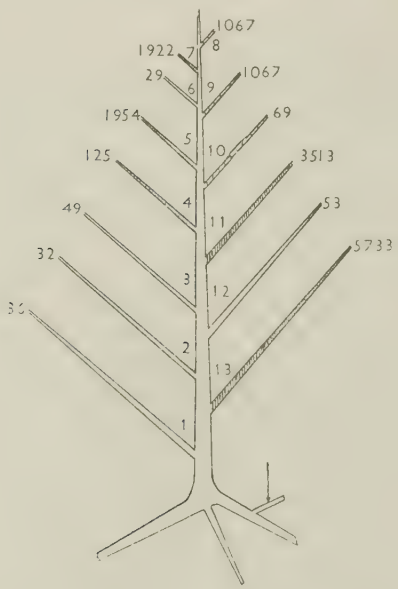


Схема № 1. Распределение радиофосфата в кроне яблони Онтарио, — P^{32} введен 26-го августа 1958 г.

Кроме этого мы провели следующий дополнительный опыт: из 4 деревьев яблони, 4 корнесобственных слив и 4 деревьев абрикоса выше описанным способом отбирали и измеряли пробы листьев несколько раз в течение 2—3 месяцев. Результаты этих измерений пересчитаны на фон счетчика и на распад радиоизотона к дате первого измерения.

После истечения 2—2,5 месяцев после введения радиофосфата мы определяли радиоактивность корней 16 привитых деревьев яблони и 4 деревьев абрикоса следующим образом: на расстоянии полуметра от ствола дерева были откопаны корни в 4 противолежащих секторах. Из каждого сектора взяли по 3—10 граммов корней моложе 2 лет. После сушки и сжигания в муфельной печи при температуре 500—600 °С определяли радиоактивность и пересчитали на 1 грамм сухого веса корней.

Сводка результатов и обсуждение

1. Транспорт радиофосфата из корня в крону дерева после введения в ксилему корня происходит главным образом вместе с транспирационным током определенной частью ксилемы ствола, изображенной на фото № 1 (радиоаутограмма поперечного сечения ствола дерева). Небольшая доля радиофосфата в наших опытах была транспортирована и в поперечном направлении по стволу.

Скорость транспортировки P^{32} из корня в крону была выше в июне чем в конце июля после остановки роста побегов. Если в начале июня для перемещения основного количества радиофосфата в крону было достаточно 2—3 часов, то в конце июля его передвижение по стволу было более медленным, в чем мы убедились по более продолжительному нарастанию радиоактивности в кроне (контрольные измерения проводились при помощи переносной установки с Гейгер Мюллеровым счетчиком). Условно можно считать передвижение из корня в крону законченным, когда при-

рост радиоактивности в кроне с течением времени незначителен. Исходя из этого а также из технических условий, мы отбирали и измеряли пробы листьев на 2-й—3-й день после введения радиофосфата.

Табл. № 1

Распределение радиофосфата в кроне 6—8-летних деревьев яблони сорта Онтарио

Номер дерева	Число ветвей с относительной радиоактивностью 1 гр сухого веса листьев в имп./мин.					Число ветвей
	0 имп./мин.	до 6000	до 18000	до 60000	выше 60000	
1	—	4	1	2	4	11
2	—	7	2	3	1	13
3	—	4	1	2	1	8
4	—	4	1	2	2	9
6	—	7	3	2	—	12
7	2	6	—	—	3	11
8	—	3	1	2	4	10
9	—	—	3	2	2	7
10	—	7	2	2	1	12
11	—	2	5	2	1	10
12	—	6	—	—	1	7
13	1	5	1	1	2	10
14	—	3	4	1	2	10
15	2	12	—	—	2	16
21	—	3	1	—	5	9
22	—	6	—	3	2	11
23	—	5	—	1	5	11
24	—	5	3	1	4	13
25	1	9	—	1	3	14
26	—	6	1	—	2	9
27	—	5	1	2	2	10
28	—	6	1	1	2	10
29	—	4	1	2	4	11
30	—	4	4	3	1	12
Сумма	6	123	36	35	56	256
%	2,35	48,05	14,1	13,7	21,9	100,1

В таблице № 1 приводится сводка данных о распределении радиофосфата в кроне каждого из 24 деревьев яблони Онтарио (6—8 летнего возраста), привитых на подвое М-I. Из общего числа 7—14 ветвей первого порядка каждого дерева мы не обнаружили радиоактивного излучения лишь в отдельных ветвьях. Наиболее высокое содержание радиофосфора было определено в 56 ветвьях, что представляет 21,9% из 256 измеренных ветвей. Больше всего ветвей с низким содержанием радиофосфата — около 50% всех ветвей.

В таблице № 2 приведены результаты измерений радиоактивности листьев корнесобственных 5—6 летних деревьев яблони. На основании

Табл. № 2

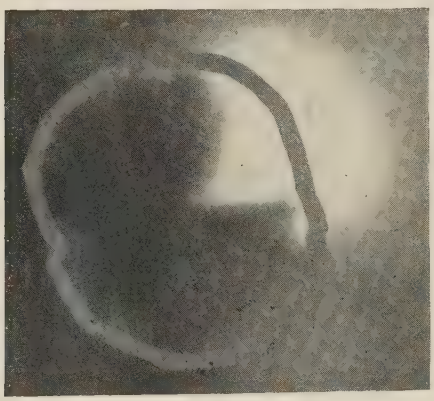
Распределение радиофосфата в кроне 6—7-летних корнесобственных деревьев яблони

Номер дерева	Число ветвей с относительной радиоактивностью 1 гр сухого веса листьев в имп./мин.					Число ветвей
	0 имп./мин.	до 6000	до 18000	до 60000	выше 60000	
1	—	2	1	2	1	6
2	—	6	—	—	—	6
3	—	—	4	2	2	8
4	—	3	—	1	3	7
5	—	—	2	2	1	5
6	—	—	1	3	3	7
7	—	—	1	1	5	7
8	—	—	—	4	2	6
9	—	—	1	3	4	8
10	—	6	1	—	1	8
11	—	5	—	1	3	9
12	—	2	—	1	2	5
13	—	3	—	3	2	8
14	—	3	2	1	3	9
15	—	1	—	1	4	6
16	—	4	1	—	3	8
17	—	3	3	2	1	9
18	—	3	—	—	5	8
19	—	5	2	—	2	9
20	—	1	1	2	5	9
Сумма	—	47	20	29	52	148
%	—	31,8	13,5	19,6	35,1	100

сравнения первой и второй таблицы можно сделать вывод о том, что передвижение и распределение радиофосфата в корнесобственных и привитых деревьях яблони практически одинаковы, поскольку разница в распределении радиофосфата в кронах в среднем незначительна. Сходные результаты получил Белавин (1958), который заставил опытные деревья ресорбировать радиофосфат через изолированный корень, помещенный в горшок с почвой. В наших опытах (Chvojka, 1958) мы нашли подобное распределение радиофосфата в кроне корнесобственных слив и привитых деревьев абрикоса (по 4 опытных дерева). Распределение радиофосфата в 3 плодоносящих 25-летних группах (Любимица Клапа) отличалось тем, что около одной трети кроны не содержало радиофосфата. Эту разницу можно объяснить возрастом и большими размерами этих взрослых деревьев, у которых проявляется большая изолированность секторов кроны и соответствующих им корней. Также у деревьев выращенных из семян было определено (Белавин, 1958), что радиофосфат не поступает во всю крону, а только в отдельные ее секторы.

Л. ХВОЙКА, А. БАБИЦКЫ

ТРАНСПОРТ РАДИОФОСФАТА ИЗ КОРНЕЙ В КРОНУ ДЕРЕВА



Фот. № 1. Радиоаутограмма поперечного сечения ствола яблони (жирной линией обведен ствол).

отобранных из 4 секторов по окружности корневой системы. Из таблицы вытекает, что у всех опытных деревьев вся корневая система была радиоактивной. Средний уровень радиоактивности противолежащего сектора корней в несколько раз ниже чем средний уровень радиоактивности секторов, расположенных на стороне введения радиофосфата в корень.

Табл. № 3

Радиоактивность корней яблони Онтарио

Номер дерева	Имп./мин. на 1 гр. сухого веса		Радиоактивность в %	
	Противолежащий сектор	Рядом лежащие секторы	Противолежащий сектор	Рядом лежащие секторы
1	90	127	100	141,2
2	192	248	100	124
3	40	549	100	1372
4	88	310	100	352,3
5	11	109	100	991
6	50	137	100	274
7	79	152	100	192,5
8	367	563	100	153,4
9	37	172	100	465
10	37	144	100	389,2
11	76	109	100	143,5
12	68	225	100	331
13	17	195	100	1148
14	11	31	100	282
15	231	591	100	255,9
16	103	166	100	161,2
			$X \pm 3 \, . \, s_{\bar{x}} = 423{,}5 \pm 3 \times 97{,}37$	
			$s = 389{,}5$	

Дальнейшие наблюдения над перераспределением радиофосфата осенью и весной технически не мыслимы, так как полураспад P^{32} относительно короткий (14,3 дня). Можно лишь предполагать, что часть введенного фосфата используется при росте корней осенью и весной и часть остается в подвижной форме и в начале следующего вегетационного периода может передвигаться в крону. В результате этого процесса распределение введенного фосфата может быть более выравненным, чем в начале опыта. Это положение вполне реально, потому что раствор радиофосфата содержал во много раз больше атомов P^{31} стабильных, чем P^{32} радиоактивных. Опыты проведенные на деревьях с другими радиоизотопами (Kuntz, Riker 1956) показали, что радиоизотопы перераспределяются с временем и в соседние деревья, которые срослись корнями с опытным деревом.

Выражаем искреннюю благодарность академику Малеку, д-ру Л. Черному и д-ру Б. Славику за оказанную в работе помощ ценными советами.

Литература

Белавин, Ю. А.: Связь между корневыми разветвлениями и ветвями у деревьев и кустарников разного происхождения. — Труды всесоюзной конференции по применению изотопов и излучений, — стр. 403—408. — Москва 1958.

Зеленская, Е. Д.: Применение радиоактивного фосфора (P^{32}) при изучении удобрения плодовых деревьев. Труды всесоюзной конференции по применению изотопов и излучений. Физиология растений, стр. 348—353. — Москва 1958.

Евдокимова, Т. П.: Взаимосвязь корневой системы и кроны яблони. — Известия Сельскохозяйственной академии им. Тимирязева 2 : 49—66, 1955.

Колесников, В. А.: Перспективы применения изотопов в плодоводстве. — Труды всесоюзной конференции по применению изотопов и излучений. Физиология растений, стр. 355—363. — Москва 1958.

Спиваковский, Н. Д.: Особенности поступления и распределения фосфора между различными органами плодового дерева (яблони). Бюллетень научно-технической информации Научно-исследовательского института им. И. В. Мичурина 2 : 26—30, 1956.

Chvojka, L.: Pohyb radiofosforu v koruně ovocného stromu za různých podmínek podání P^{32}. Symposium o účincích ionisujícího záření a použití radioisotopů v biologii a medicině. Teze referátu (30—31). [Движение радиофосфора в кроне фруктового дерева при разных условиях введения P^{32}. Симпозиум о действии ионизирующего излучения и применения радиоизотопов в биологии и медицине. Тезисы докладов (30—31).] Прага 1958.

Kuntz, J. E., Riker, A. J.: The use of radioactive isotopes to ascertain the role of root grafting in the translocation of water, nutrients and disease-inducing organism among forest trees. Proceedings of the international conference of the peaceful uses of atomic energy held in Geneva (8—20 August 1955). [Применение радиоактивных изотопов для определения значения прививки корней в распределении воды, питательных веществ и патогенных организмов у лесных деревьев. Сборник докладов на международной конференции по использованию атомной энергии для мирных целей в Женеве (8—20-ое августа 1955 г.).] — New York, 1956.

Spinks, J. W. Proceedings of the international conference on the peaceful uses of atomic energy. (8—20 August 1955). [Сборник докладов на международной конференции по использованию атомной энергии для мирвых целей в Женеве (8—20-ое августа 1955).] — New York, 1956.

Адрес: Inž. Ludvík Chvojka,, Biologický ústav ČSAV, Praha 6, Na cvičišti 2.

Dr. Arnošt Babický, Biologický ústav ČSAV, Praha 6, Na cvičišti 2.

Введение

Быстрое и надежное определение интенсивности фотосинтеза в полевых условиях вызывает очень серьезные затруднения как физиологического (напр. сильный перегрев листьев в замкнутых камерах) так технического характера (громоздкие, трудно портативные приборы). Описанный прибор устраняет до определенной степени некоторые из этих затруднений (напр. обе приведенные). Задачей этой работы является дополнение раньше описанного принципа метода для определения фотосинтеза (Čatský и Slavík 1958 б, рис. 3, стр. 65) описанием полевого прибора, проверенного трехлетним применением и практическими сведениями о работе с ним.

Принцип метода

Интенсивность фотосинтеза при данной схеме установки определяется по разнице концентрации CO_2 в воздухе, который прошел камерой с ассимилирующим листом, и концентрации CO_2 в контрольном воздухе. Концентрация CO_2 в воздухе определяется методом, принцип которого описал Kauko (1932, 1934, 1935). Этот метод основан на том факте, что концентрация ионов водорода в сильно разбавленном растворе бикарбоната является прямо пропорциональной парциальному давлению CO_2 в воздухе, находящемся в равновесии с этим раствором. Эту зависимость точно формулировал Carlberg (1936) и в последнее время ее уточнил Lange (1956). Правильность определения CO_2 в воздухе с помощью этого метода была вновь проверена Lieth-ом (1958), который сопоставил результаты достигнутые этим методом с новейшим лабораторным определением CO_2 при помощи инфракрасного газоанализатора и получил достаточно сходные результаты.

Измерительная единица прибора состоит из стеклянного продувающего устройства, капиллярного реометра и мембранного насосика. (При определении CO_2 в контрольном воздухе не обязательно включать реометр). Исследуемый воздух отсасывается из камеры с помощью насосика и направляется через полиэтиленовую трубку к продувающему устройству, в котором проходит раствором бикарбоната (0,001 н $NaHCO_3$ + 0,099 н KCl). 5—10 мин. спустя здесь наступает равновесие между содержанием CO_2 в проходящем воздухе и pH раствора. При постоянной концентрации CO_2 значение pH в дальнейшем не изменяется; таким образом, приблизительно 7 мин. спустя от начала измерений, нам можно определить значение pH раствора бикарбоната и на графике или в таблице отыскать прямо результат в мг CO_2 1000мл воздуха. Для вычисления парциального давления CO_2 (и таким образом и его количества) с помощью экспериментально полученных величин pH раствора бикарбоната мы пользуемся по предложению Lange (1956) уравнением $pH = a - (1{,}02 \times \log P)$, в котором a является константой зависимой от температуры, и P обозначает парциальное давление CO_2 в воздухе в атм. Значения a при разных температурах установил экспериментально Lange и приводит их в своей работе (Lange 1956, рис. 4). Величину P рассчитываем по основному уравнению газов. Зависимость pH бикарбонатного раствора от содержания CO_2 в воздухе нам можно для

практических целей представить графически (Čatský и Slavík 1958а, рис. 2 и 3).

Определение pH является основным ограничивающим фактором точности метода. В условиях полевого опыта является выгодным измерять pH колориметрически. Вместо до сих пор используемого крезолрота (см. литературу Čatský и Slavík 1958а, б) мы предлагаем для уточнения определения pH смесь крезолрота и тимолблау (приготовление см. дальше), которая при нужной опытности гарантирует точность определения от $\pm 0{,}02$ до 0,03 pH в промежутке между pH 7,6—8,7. Эта точность отвечает примерно $\pm 5\%$ ошибке в определении концентрации CO_2. Вторым решающим фактором для точного определения интенсивности фотосинтеза является точность определения скорости тока воздуха, которая при использовании в дальнейшем описанных реометров не является худшей чем 4—5%.

Описание прибора и принадлежностей

В полевом приборе нашего устройства находятся в чемоданчике из искусственного материала и алюминия размерами в $350 \times 260 \times 170$ мм (фот. 1, 2, 3) 4 измерительные единицы с принадлежностями: Набор стандартных растворов в ампулах, запасной раствор бикарбоната с индикатором, полиэтиленовые трубки для подвода воздуха и камеры для листьев.

В качестве листовой камеры мы используем простую полиэтиленовую камеру (Čatský и Slavík 1958 б, рис. 3) или камеру — щипцы (Ничипорович и Бакулина 1930, Ничипорович 1955). Эти два типа камер удовлетворяют требованиям большинства полевых опытов. Для некоторых работ является выгодным использовать камеру «Ansaugplatte» (Косн 1956). В некоторых случаях (в частности при сильном солнечном освещении) является выгодным хоть частично устранить вредный перегрев листьев, т. наз. камерный микроклимат. С помощью стеклянного фильтра (напр. Schott BG17, по надобности BG19 или BG21) мы отсеиваем длинноволновые лучи на расстоянии нескольких см от самой камеры, чтобы не происходило механического переноса тепла. При пользовании фильтрами нельзя забывать, что кроме длинноволнового теплового излучения мы устраняем и часть фотосинтетически активных красных лучей.

Нужно обратить также внимание на важное обстоятельство: для обеспечения непрерывного хода фотосинтеза листа, замкнутого в камере, необходимо поддерживать такую скорость тока воздуха, чтобы и при самой большой интенсивности фотосинтеза не происходило снижение CO_2 в воздухе больше чем на 25—30%. Более подробные сведения можно найти в работе Ничипоровича (1955, стр. 229). Скорость тока воздуха, проходящего камерой в нашем приборе, равна примерно 10 л/час, что отвечает поверхности опытного листа в 5 $см^2$ при интенсивности фотосинтеза около 20 мг/$дм^2$/час. При низшей интенсивности фотосинтеза является выгодным снизить скорость тока воздуха на такую величину, чтобы лист использовал приблизительно 25% CO_2 из воздуха; в случае высшей интенсивности фотосинтеза наоборот, скорость тока воздуха нужно увеличить. Для оттока воздуха от камеры к прибору обязательно нужно пользоваться трубками из полиэтилена, смягченного поливинилхлорида или другого материала мало проницаемого для CO_2. Обычно применяемые резиновые трубки пропускают CO_2, и таким образом являются источником серьезных ошибок и ненадежных результатов. Подходящая форма и размеры продувающего устройства явля-

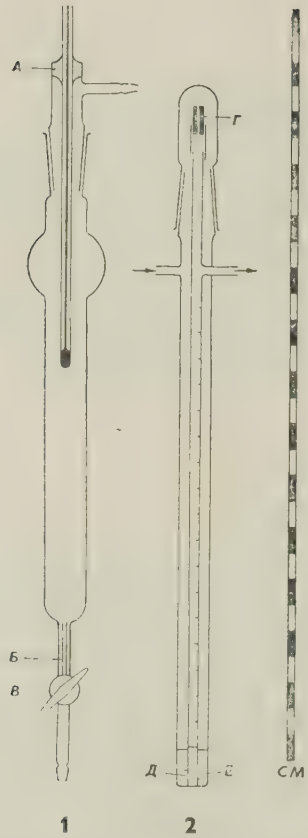


Рис. 1. Продувающее устройство. А: стекло или пластмасса, Б: тонкая стеклянная трубка, В: «биретовый» кран.

Рис. 2. Капиллярный реометр. Г: обменная капилляра, Д: отверстие в 1—2 мм, Е: парафиновое масло или этиленгликол.

ются очевидными из рис. 1. Нужно отметить, что пробирки не должны быть сконструированы по типу поглотителей в абсорбционных методах; речь идет не об абсорбции всего CO_2 в воздухе, а об установлении равновесия между парциальным давлением CO_2 в воздухе и диссоциацией раствора. Для достижения равновесного состояния не является также нужным повысить распыление воздуха в растворе (напр. с помощью бутанола) как в случае абсорбции. Для точной регулировки скорости тока воздуха служат т. наз. биретовые краны продувающего устройства. Перед первым применением продувающее устройство нужно тщательно промыть хромпиком, чтобы во время работы не происходило выщелачивание щелочей из стекла, и таким образом не происходило изменение pH раствора бикарбоната. Между продувающим устройством и реометрами включены сушильные сосуды со силикагелем для устранения избытка влаги в воздухе (к защите клапанов насосиков). Реометры являются капиллярными и для разных скоростей тока воздуха снабжены обменной капиллярой по Mavrodineanu (1956 и рис. 2). Реометры заполненны парафиновым маслом окрашенным суданом III, или этиленгликолом окрашенным напр. нафтолевым зеленым (J. Bartoš, личное сообщение 1958). В нашем приборе находятся 4 мембранные насосика, которые соединены в один вывод. Для обеспечения безупречного хода прибора достаточно 2 насосиков. Это выгодно тем, что в случае порчи некоторого из насосиков, работа не нарушается. Ход насосиков обеспечивают 2 электромотора в 12 вольт, питаемые карманными батареями (фот. 4). Полное заряжение батареей (16 шт.) хватает примерно на 30—50 часов работы. В лаборатории можно моторы питать прямо от сети через трансформатор и через реостат в приборе.

Подготовка бикарбонатного раствора с индикатором была описана в работе Čatský и Slavík (1958 в, стр. 67). В качестве индикатора pH мы пользуемся смесью 1 части 0,1% раствора крезолрота в 20% этаноле и 1 части 0,2% раствора тимолблау в 90% этаноле при концентрации 2 мл этой смеси на 100 мл раствора бикарбоната. Имея ввиду лучшее постоянство раствора, удобнее использовать в качестве исходных растворов нейтрализированные водные растворы обеих красителей (Tomíček 1946, стр. 55). В интересах простоты метода в качестве колориметрического стандарта мы пользуемся шкалой буферных растворов ($Na_2B_4O_7 + H_3BO_3$, Zeller 1951) по 0,025 pH с такой же концентрацией индикатора как в растворе бикарбоната. Значение pH определяется после добавления индикатора точным компенсационным pH-метром с точностью 0,005 pH. Растворы находятся запаянными в стеклянных ампулах одинаковых размеров, из того же стекла как и продувающее устройство и консервированных кипячением (Л. Е. Строгонова, личное сообщение 1958) или добавлением зернышка тимола.

Обсуждение

Описанный метод определения интенсивности фотосинтеза принадлежит к газометрическим методам и это значит, что имеет общие преимущества и недостатки газометрических методов. Подробное сравнение этого метода

И. ЧАТСКЫ и Б. СЛАВИК

ПОЛЕВОЙ ПРИБОР ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФОТОСИНТЕЗА

Фото 1. Общий вид прибора в транспортном состоянии.

Фото 2. Вид прибора в транспортном состоянии с открытой крышкой.

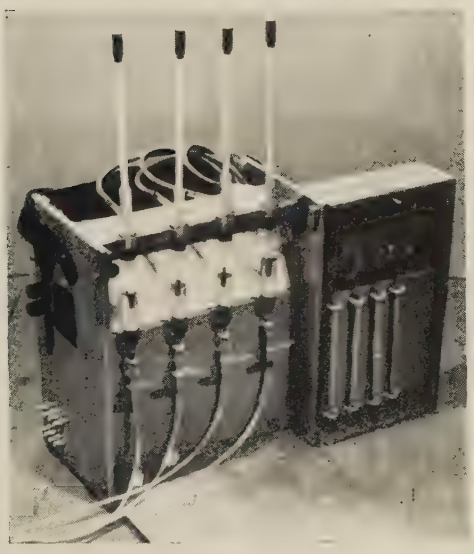


Фото 3. Прибор подготовленный к измерениям.

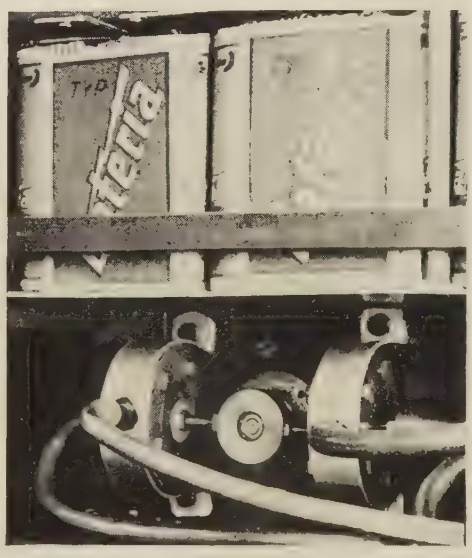


Фото 4. Вид одной пары мембранных насосиков.

с другими полевыми газометрическими методами, включая обзор литературы, выходит, конечно, за рамки этой работы. Мы обращаем внимание только на некоторые важные особенности описанного метода. Основным требованием для общего пользования газометрическим методом является как можно высшее снижение влияния камерного микроклимата на исследуемый лист. Самым простым частичным решением этой проблемы является использование тока воздуха проходящего сквозь ассимиляционную камеру. Такое устройство устраняет и следующий серьезный недочет методов работающих с замкнутой ассимиляционной камерой, а именно понижающуюся концентрацию CO_2 в камере во время экспозиции. Ток воздуха в описанном приборе сравнительно легко поддерживается электрическими насосиками; однако можно пользоваться насосиками с другим двигателем (мотор от патефона — А. А. Ничипорович, личное сообщение 1958). Установка прибора отвечает и другим требованиям полевых методов, а именно: прибор легко транспортабилен, быстро включается и просто обслуживается при сохранении достаточной точности и надежности результатов. Использование принципа анализа токов воздуха по Кауко позволяет непосредственное беспрерывное исследование концентрации CO_2 в анализированном воздухе, что представляет также непосредственное и не суммированное исследование интенсивности фотосинтеза. В такой же мере позволяет следить совершенно достоверно за общим характером хода фотосинтеза. Своей наглядностью метод является подходящим для самих различных демонстративных целей.

Зам. авторов:

После сдачи этой статьи был сконструирован новый шестиместный тип описанного прибора; его изображение будет опубликовано в следующем номере Biologia plantarum.

Литература

Carlberg, J. J.: Bestämning av pH-värdet i utspädda bikarbonatlösningar vid olika CO_2-tryck [Устанавливание величины pH в разбавленном растворе бикарбоната при разном давлении CO_2] — Acta forest. fennica **42** : 1—81, 1936.

Čatský, J., Slavík, B.: Modifikace Álvikovy metody stanovení intensity fotosyntesy v polních podmínkách [Модификация метода Ольвика по определению интенсивности фотосинтеза в полевых условиях] — Sborník ČSAZV-Rost. výroba **4** : 69—82, 1958a.

Čatský, J., Slavík, B.: Eine neue Anwendung der CO_2-Bestimmung nach Kauko zu Assimilationsmessungen [Новое использование определения CO_2 по Кауко для измерения ассимиляции] — Planta **51** : 63—69, 1958b.

Kauko, Y.: Acta chem. fennica **5**, 1932. (цит. Kauko 1934).

Kauko, Y.: Zur Bestimmung der Kohlensäure in der Luft mit Hilfe von pH-Messungen. [К определению углекислого газа в воздухе с помощью измерений pH] — Angew. Chem. **47** : 164—167, 1934.

Kauko, Y.: Ein Apparat zur potentiometrischen Bestimmung der Luftkohlensäure. [Прибор для потенциометрического определения углекислого газа в воздухе] — Angew. Chem. **48** : 539—540, 1935.

Koch, W.: Eine neue Methode zur Lösung des Küvettenproblems bei der Registrierung des Gaswechsels. [Новый метод для решения камерной проблемы при регистрации обмена газов] — Naturwiss. **43** : 64, 1956.

Lange, O. L.: Zur Methodik der kolorimetrischen CO_2-Bestimmung nach Álvik. [К методике колориметрического определения CO_2 по Ольвику] — Ber. Dtsch. bot. Ges. **69** : 49—60, 1956.

Lieth, H.: Grenzen und Anwendungsmöglichkeiten der colorimetrischen CO_2-Bestimmung. [Границы и возможности использования колориметрического определения CO_2] — Planta **51** : 705—721, 1958.

Mavrodineanu, R.: Glass flowmeter with interchangeable capillaries. [Стеклянный реометр с обменными капиллярами] — Contrib. Boyce Thompson Inst. **18** : 331—332, 1956.

Ничипорович, А. А., Бакулина, Н. И.: Упрощенный метод относительного учета ассимиляции CO_2 растениями в полевых условиях. — Изв. по опыт. делу Сев. Кавказа 1930 (5) : 21—34, 1930.

Ничипорович, А. А.: О методах учета и изучения фотосинтеза как фактора урожайности. — Тр. Инст. физ. раст. им. К. А. Тимирязева **10** : 210—249, 1955.

Tomíček, O.: Chemické indikátory. (Химические индикаторы). — Praha 1946.

Zeller, O.: Über Assimilation und Atmung der Pflanzen im Winter bei tiefen Temperaturen. [Об ассимиляции и дыхании растений зимой при низких температурах] — Planta **39** : 500—526, 1951.

Адрес: Jiří Čatský, prom. biol., Dr. Bohdan Slavík, Biologický ústav ČSAV, Na cvičišti 2, Praha 6 - Dejvice.

BIOL. PLANT. 2 (2) : 107—112, 1960

A Field Apparatus for the Determination of Intensity of Photosynthesis

J. Čatský and B. Slavík

Department of Plant Physiology, Institute of Biology, Czechoslovak Academy of Sciences, Prague

The authors describe an apparatus for the determination of photosynthetic intensity under field conditions, which has passed through three years of testing. They present some practical comments on work with it. The apparatus operates on the basis of a continuous-flow gasometric method with a visual colorimetric determination of CO_2 concentration in air (Čatský and Slavík 1958b). It makes it possible for one worker to control about 10 analyzed air currents (i. e. reading the CO_2 concentration and gas flow in 10-minute intervals for each current). The apparatus used here is, for the sake of mobility, a four-place one and is placed with its auxiliary equipment in a plastic-and-aluminium case measuring 350 × 260 × 170 mm., its total weight amounting to about 6 kg.

BIOLOGIA PLANTARUM (PRAHA)

2 (2) : 113—125, 1960

Über die Bestäubungsökologie der Parnassia-Blüte

Ein weiterer Beitrag zur experimentellen Blütenökologie

Erich Daumann

Lehrkanzel für Botanik der naturwissenschaftlichen Fakultät der Karls-Universität, Praha

Eingegangen am 18. September 1959

Souhrn

Zčásti experimentální analysa návštěv dvou druhů much (*Tubifera pendula* L., *Syrphus balteatus* Deg.) na květech tolije bahenní (*Parnassia palustris* L.) se zvláštním přihlédnutím k takovým exemplářům, které nebyly obeznámeny se zařízením těchto květů, ukázala, že tzv. zdánlivé nektarie v květech toho druhu nemají význam pro přilákání much ani zdáli, ani zblízka, a proto jsou postradatelné pro opylování. Tato analysa doplňuje dřívější autorovo šetření (Daumann 1932, 1935), jež bylo provedeno převážně s exempláři obou druhů much shora uvedených, které již byly obeznámeny se zařízením květů tolije bahenní. Výsledky nepotvrzují názor Kuglera (1951), podle něhož tzv. zdánlivé nektarie tolije bahenní „klamou" mouchy, které navštěvují květy toho druhu, a mohou tak za jistých okolností zvýšit vyhlídky na návštěvu a na opylování.

Zusammenfassung

1. Die z. T. experimentelle Analyse des Blumenbesuches zweier Syrphiden-Arten (*Tubifera pendula* L., *Syrphus balteatus* Deg.) an *Parnassia palustris* L. unter besonderer Berücksichtigung von Tieren, die mit den Blüteneinrichtungen dieser Pflanze nicht vertraut waren, ergab, dass die „Scheinnektarien" der Blüten für die Fern- und Nahanlockung bedeutungslos und demnach für die Bestäubung entbehrlich sind.

2. Die vorliegenden Untersuchungen ergänzen meine frühere Analyse des Blumenbesuches der genannten zwei Syrphiden-Arten an *Parnassia* (Daumann, 1932, 1935), die unter vorwiegender Berücksichtigung von Tieren ausgeführt wurden, die mit den Blüteneinrichtungen dieser Pflanze bereits vertraut waren.

3. Meine Ergebnisse bestätigen nicht die Ansicht KUGLERS (1951), dass die „Scheinnektarien" von *Parnassia palustris* blumenbesuchende Fliegen „täuschen" und unter Umständen die Besuchs- und Bestäubungsaussichten erhöhen können.

Einleitung

Eine zum Teil experimentelle Analyse des Blumenbesuches zweier Syrphiden-Arten (*Tubifera pendula* L., *Syrphus balteatus* DEG.) an *Parnassia palustris* L. (DAUMANN, 1932, 1935) ergab, dass die „Scheinnektarien" in den Blüten dieser Pflanze für die Fern- und Nahanlockung bedeutungslos und demnach für die Bestäubung entbehrlich sind. Die Fernanlockung der studierten Dipteren, die beim Blumenbesuch an *Parnassia* einen beachtlichen Grad von Blumenstetigkeit erreichen*), erfolgt optisch durch die weisse Blumenkrone. Der charakteristische Blütenduft veranlasst die Tiere sich niederzulassen, sobald sie sich in unmittelbarer Nähe der Blüten befinden (Nahanlockung). Beim Besuch ist es wiederum der Duft, welcher die Fliegen zu den Stellen der Nektarsekretion leitet.

Versuche mit Goldfliegen (Lucilien) ergaben nach KUGLER (1951), dass diese Tiere durch glänzende tropfenähnliche Gebilde optisch angelockt und zur Rüsselreaktion veranlasst werden. Der genannte Autor beobachtete auch (im Flugkasten), wie sich Goldfliegen, die *Parnassia*-Blüten noch nie gesehen hatten, auf diesen Blumen verhielten (drei mit den gleichen Tieren ausgeführte Versuche): Im ersten Versuch betasteten die Fliegen bei fünf Besuchen durchwegs zuerst die „Scheinnektarien", im zweiten Versuch wurden bei acht Besuchen in sechs Fällen wiederum zuerst die „Scheinnektarien" und in zwei die Nektarien mit dem Rüssel betastet, im dritten Versuch erfolgte die Rüsselreaktion bei vier Tieren zuerst an den „Scheinnektarien" und bei vier anderen zunächst auf den Nektarien. Auf Grund dieser Versuche und der Verhältniszahlen 5 : 0, 6 : 2, 4 : 4 nimmt KUGLER an, dass die „Scheinnektarien" eine optische Reizwirkung besitzen und dass es sich bei den Versuchstieren um eine Lernreaktion handelte**). Der genannte Autor beobachtete auch im Freilande zweimal den Besuch einer Schwebfliege *(Sphaerophoria scripta)* an *Parnassia*-Blüten***). Das eine Tier betastete mit dem Rüssel die „Scheinnektarien" und fand erst „nach einigem Umhersuchen" die Nektarien, während das zweite Exemplar sofort an den Nektarien saugte und die „Scheinnektarien" nur „gelegentlich" berührte. KUGLER vermutet, dass die erste Schwebfliege noch „unerfahren", die zweite hingegen mit der Blüteneinrichtung bereits vertraut war (Lernfähigkeit). Auf Grund dieser Versuche und Beobachtungen ist nun KUGLER der Ansicht, dass die „Scheinnektarien" von *Parnassia palustris* blumenbesuchende Fliegen „täuschen" und unter Umständen die Besuchs- und Bestäubungsaussichten erhöhen können****). Bei meinen eingehenden Untersuchungen des Blumenbesuches

*) KUGLER (1950, S. 328) führt an, dass über die Blumenstetigkeit der Schlammfliege (*Eristalomya tenax* L.) wie überhaupt der Syrphiden in der Literatur keine eingehenderen Angaben vorliegen, obwohl ich an Hand von Beobachtungs- und Versuchsprotokollen (DAUMANN, 1932, 1935) die Blumenstetigkeit der beiden obgenannten Syrphiden-Arten eingehend darlegen konnte. Für *Eristalomya tenax* L. führte ich damals (DAUMANN 1932, S. 135) an, dass sie hinsichtlich des Blumenbesuches an *Parnassia* ein ähnliches Verhalten wie die beiden genannten Versuchsarten zeigt.

**) Es sei hier darauf verwiesen, dass sich nach meinen Beobachtungen (DAUMANN, 1932, S. 135) verschiedene Dipteren-Arten, darunter auch *Lucilia ruficeps* MG. und *Lucilia sylvarum* MG., beim Blumenbesuch an *Parnassia* anders als die genannten Syrphiden-Arten verhielten: hinsichtlich *Parnassia* liessen sie keine Blumenstetigkeit erkennen, auf den *Parnassia*-Blüten erfolgte die Rüsselreaktion wahllos auf den verschiedenen Blütenteilen, irgendwelche nach Tageszeiten auftretende Unterschiede in diesem Verhalten waren bei ihnen nicht zu erkennen.

***) Auch für diese Art führte ich an (DAUMANN, 1932, S. 135), dass sie sich beim Blumenbesuch an *Parnassia* ähnlich wie *Tubifera pendula* und *Syrphus balteatus* verhält.

****) KUGLERS Versuche mit Goldfliegen (Lucilien) (1951, S. 333f) haben nicht nur auf die optische N a h w i r k u n g glänzender Tropfen (Glasperlen, Aluminiumplättchen), sondern auch auf deren F e r n w i r k u n g Bezug, da sich bei einigen Versuchen die Tiere b e r e i t s i m F l u g e für das betreffende Modell entscheiden mussten. Der genannte Autor spricht in diesem Zusammenhange später in einer zusammenfassenden Darstellung (1955a, S. 104) nur von „Faktoren der optischen Nahwirkung".

zweier Schwebfliegen-Arten an *Parnassia* konnte ich schon in den Jahren 1931—1933 eine deutliche Lernfähigkeit dieser Tiere beobachten. In den Morgenstunden waren sie noch nicht blumenstet, ihre Besuche, soweit diese auf *Parnassia*-Blüten erfolgten, waren noch „ungeschickt", die Fliegen streckten den Rüssel „wahllos" an den verschiedenen Blütenteilen, auch an den „Scheinnektarien". Im Laufe des Vormittags ging diese Besuchsweise ganz allmählich in eine andere über, bei der überwiegend *Parnassia*-Blüten besucht wurden (Blumenstetigkeit) und bei der die Rüsselreaktion fast ausschliesslich nur auf den Nektarien erfolgte. Den Einwand Kuglers (1951, 1955a, b), dass ich die Lernfähigkeit der Fliegen nicht beachtet hätte, muss ich als unbegründet zurückweisen. Bei den „ungeschickten" Blumenbesuchen in den Morgenstunden hatte ich nie den Eindruck, dass die Tiere zuerst oder vorherrschend die „Scheinnektarien" mit dem Rüssel betupften. (Man vergleiche die genaue Schilderung eines solchen Blumenbesuches auf Seite 118 meiner Arbeit aus dem Jahre 1932.) Daher ist auch Kuglers Interpretation meiner Beobachtungen, dass die Tiere „später auf den optischen Reiz der Scheinnektarien nicht mehr reagierten" (1951, S. 336), unrichtig.

Da mir im Laufe weiterer Beobachtungen des Blumenbesuches von Dipteren an *Parnassia* gegen die Auffassung Kuglers über die ökologische Bedeutung der „Scheinnektarien" in den Blüten dieser Art erhebliche Bedenken gekommen sind, führte ich als Ergänzung meiner beiden früheren Arbeiten (Daumann, 1932, 1935) mehr als zwei Jahrzehnte später an derselben Örtlichkeit und wiederum unter vornehmlicher Berücksichtigung der eingangs genannten zwei Syrphiden-Arten eine eingehende Analyse vor allem der Besuchsweise in den Morgenstunden („ungeschickte" Besuche) durch, um an Hand eines umfangreichen Beobachtungsmaterials die Frage nach der optischen Wirkung der „Scheinnektarien" auf Tiere, die mit den Blüten noch nicht vertraut sind, beantworten zu können.

Beobachtungs- und Versuchsgelände, Versuchstiere

Die in den folgenden Kapiteln behandelten Untersuchungen über den Blumenbesuch an *Parnassia palustris* wurden während zweier aufeinanderfolgender Vegetationsperioden im August und September im Ufergebiet des Teiches Máchovo jezero bei Doksy in Nordböhmen durchgeführt. Hier kommt unsere Pflanze auf sumpfigen Wiesen häufig vor und befindet sich zur angegebenen Jahreszeit in voller Blüte. Für meine Beobachtungen und Versuche wählte ich eine geeignete Wiese im Ufergelände, die aber nicht mit meiner früheren „Versuchswiese" (Daumann, 1932) identisch ist, da in deren Umgebung inzwischen Veränderungen eingetreten waren, die sie für meine Zwecke als weniger geeignet erscheinen liessen. Hinsichtlich des Pflanzenbestandes und Insektenlebens stimmte die von mir gewählte Örtlichkeit weitgehend mit meiner damaligen „Versuchswiese" überein, so dass ich, was Einzelheiten anbelangt, auf meine seinerzeitige Veröffentlichung hinweisen kann. Wiederum konnte ich beobachten, dass besonders bei sonnigem und windstillem Wetter die Blüten von *Parnassia palustris* vor allem von Dipteren, viel weniger von Hymenopteren, besucht werden. Von den beobachteten Dipteren waren in stärkster Individuenzahl vier Arten an den *Parnassia*-Blüten tätig, und zwar *Sphaerophoria scripta* Scop., *Eristalomya tenax* L., *Tubifera pendula* L. und *Syrphus balteatus* Deg. Um die Kontinuität mit meinen früheren Beobachtungen und Versuchen zu wahren (Daumann, 1932, 1935), lenkte ich mein Augenmerk vornehmlich wiederum auf die beiden letztgenannten Arten.

Der Blumenbesuch der beiden Versuchsarten an unversehrten Parnassia-Blüten

Tubifera pendula und *Syrphus balteatus* verhalten sich in den Einzelheiten des Blumenbesuches an *Parnassia* annähernd gleich*). Ebenso wie vor mehr als zwei Jahrzehnten konnte

*) Bei der Beobachtung der Einzelheiten des Blumenbesuches leistete mir eine monokulare Fernrohrlupe (Firma Zeiss, sechsfache Vergrösserung der Fernrohrlinse und Vorsatzlinsen 1, 3, 6) gute Dienste.

ich beobachten, dass der Blumenbesuch der beiden Fliegenarten in den Morgenstunden wesentlich anders als gegen Mittag erfolgt, wobei täglich die eine Besuchsweise allmählich in die folgende übergeht. Hinsichtlich der Einzelheiten verweise ich auf meine beiden früheren Veröffentlichungen. Die beiden Besuchsweisen können kurz folgendermassen charakterisiert werden: In den Morgenstunden werden von den beiden Dipteren-Arten regellos nacheinander *Parnassia*-Blüten und solche anderer Pflanzenarten (auch mit nicht weisser Blumenfarbe, z. B. von *Ranunculus*, *Lythrum*) besucht; die Tiere lassen noch keine Blumenstetigkeit erkennen. Beim Besuch der *Parnassia*-Blüten erfolgt die Rüsselreaktion „wahllos" auf den verschiedenen Blütenteilen. In den späten Vormittagsstunden hingegen fliegen die Dipteren annähernd geradlinig und ohne Unterbrechung eine *Parnassia*-Blüte nach der anderen an und besuchen sie; sehr selten wird zwischenhinein eine andere Blüte (und da fast immer eine solche mit vorwiegend weisser Blumenfarbe, z. B. von *Euphrasia*) angeflogen aber fast nie besucht*). Die Tiere weisen während dieser Tageszeit eine weitgehende Blumenstetigkeit auf. Beim Besuch der *Parnassia*-Blüten wird der Rüssel fast ausschliesslich nur auf den Nektarien gestreckt. Der tageszeitliche Unterschied in der Besuchsweise spricht dafür, dass bei den Tieren über Nacht die Bindung an den Besuch der *Parnassia*-Blüten eine weitgehende Lockerung erfährt, bezw. überhaupt schwindet. Die Blumenstetigkeit und die „geschickte" Besuchsweise als Produkte von Lernreaktionen kommen täglich von neuem zustande.

Wenn die „Scheinnektarien" beim Anflug und Besuch der *Parnassia*-Blüten eine optische Reizwirkung (Fernwirkung, Nahwirkung) auf die Vertreter unserer beiden Dipteren-Arten besässen, müsste sich dies vor allem im Benehmen der „unerfahrenen" Tiere in den Morgenstunden zeigen, die wir für unsere Zwecke, wie sich dies eindeutig aus ihrem Verhalten ergibt, solchen etwa im Flugkasten geschlüpften Tieren, die noch nie eine *Parnassia*-Blüte gesehen haben konnten, gleichsetzen (als adäquat betrachten) können. Um nun zunächst die Frage nach einer etwaigen optischen Nahwirkung der „Scheinnektarien" auf „unerfahrene" Dipteren zu prüfen, führte ich zweierlei Beobachtungen durch: einerseits registrierte ich, an welcher Stelle der *Parnassia*-Blüten die erste Rüsselreaktion nach dem Niedersetzen der Tiere erfolgte (Beobachtungsreihe I), andererseits merkte ich mir alle Teile der *Parnassia*-Blüten an, an denen die Diptere beim Blumenbesuch den Rüssel streckte, wobei die Häufigkeit der Rüsselreaktionen an den verschiedenen Blütenteilen berücksichtigt wurde (Beobachtungsreihe II).

Beobachtungsreihe I: Im Laufe von 13 Tagen konnte ich bei 469 beobachteten Besuchen unserer beiden Dipteren-Arten an *Parnassia*-Blüten feststellen, an welcher Stelle der Blüte die erste Rüsselreaktion der Tiere erfolgte. Unserer Problemstellung entsprechend wandte ich mein Augenmerk hauptsächlich der „ungeschickten" Besuchsweise in den Morgenstunden zu, doch war es nötig, die Beobachtungen auf die Vormittagsstunden auszudehnen, um dabei den Übergang in die „geschickte" Besuchsweise zu erfassen. Bei der Registrierung der Einzelheiten wählte ich in der Zeit von 7.30 bis 11.30 halbstündige Intervalle, wobei bemerkt sei, dass die Einreihung der Beobachtungen in diese Intervalle nur eine annähernde ist, da es mir vor allem darauf ankam, das Benehmen der Tiere auf den *Parnassia*-Blüten genau zu beobachten und zu registrieren, was eine genaue Zeitbestimmung der einzelnen Besuche (auf Minuten) sehr erschwerte. Ich registrierte die erste Rüsselreaktion an den Blumenblättern, an den Staubblättern, am Fruchtknoten (plus Narbe), an den „Scheinnektarien" und auf den Nektarien der *Parnassia*-Blüten. Rüsselreaktionen der Dipteren an den Stielchen der „Scheinnektarien" wurden bei diesen Beobachtungen von mir nicht berücksichtigt, da bei der Kleinheit der Gebilde die Möglichkeit von Beobachtungsfehlern verhältnismässig gross ist. Wenn von den Tieren beim Blumenbesuch an *Parnassia* zwischenhinein auch andere Blüten besucht wurden (was besonders in den Morgenstunden der Fall ist), habe ich dies nicht vermerkt. Ebenso wurde diesmal von mir nicht berücksichtigt, ob es sich

*) Die Bezeichnungen „Anflug" und „Besuch" werden auch hier im Sinne der Definition von Knoll (1921) verwendet.

um aufeinanderfolgende Besuche ein- und desselben Tieres auf verschiedenen Blüten oder um Besuche verschiedener Vertreter der beiden Dipteren-Arten handelte. Es kam auch vor, dass sich ein- und dieselbe Diptere unmittelbar aufeinanderfolgend oder nach dem Besuch anderer Blüten wiederum auf einer schon besuchten *Parnassia*-Blüte niederliess; in einem solchen Falle wurde der neuerliche Besuch getrennt bewertet. Es wurden von mir nur Besuche registriert, bei denen ich in einwandfreier Weise die Stelle der ersten Rüsselreaktion auf der Blüte beobachten konnte; wenn ich in dieser Hinsicht (z. B. bei einer für den Beobachter ungünstigen Stellung der Diptere nach dem Niedersetzen auf der Blüte) nicht sicher war, wurde der betreffende Besuch nicht berücksichtigt. Bei der grossen Zahl von Einzelbeobachtungen können auch immerhin mögliche Beobachtungsfehler die Ergebnisse nicht wesentlich beeinflussen.

Die Ergebnisse meiner Beobachtungen sind in zwei Tabellen (Tabelle 1 und 2) übersichtlich dargestellt, und zwar getrennt für *Tubifera pendula* und für *Syrphus balteatus*. In den Tabellen bedeutet RR Rüsselreaktion, B Besuche, C Blumenblätter, A Staubblätter, G Fruchtknoten (plus Narbe), S „Scheinnektarien" und N Nektarien. In den acht halbstündigen Beobachtungsintervallen ist oben die Zahl der registrierten Besuche an *Parnassia*-Blüten angegeben. Die erste Rüsselreaktion der Dipteren an den einzelnen Blütenteilen ist in Prozenten (auf eine Dezimalstelle berechnet) und in absoluten Werten (in Klammern) angeführt. So bedeutet z. B. in der Tabelle 1 die erste Kolonne, dass in der Zeit (annähernd) von 7.30 bis 8 Uhr bei 32 beobachteten Besuchen von *Tubifera pendula* an *Parnassia*-Blüten die erste Rüsselreaktion nach dem Niedersetzen auf der Blüte bei 6 Besuchen an den Blumenblättern (das sind 18,7% von 32 Besuchen), bei 6 Besuchen an den Staubblättern (18,7%), bei 7 Besuchen am Fruchtknoten (plus Narbe) (21,8%), bei 7 Besuchen an den „Scheinnektarien" (21,8%) und bei 6 Besuchen auf den Nektarien (18,7%) erfolgte.

Aus beiden Tabellen geht deutlich hervor, dass die beobachteten Dipteren beim Blumenbesuch an *Parnassia* in den Morgenstunden den Rüssel zuerst annähernd gleichmässig („wahllos") an den verschiedenen Blütenteilen strecken („ungeschickte" Besuchsweise); es zeigt sich also dabei keinerlei Bevorzugung irgendeiner Stelle in der Blüte, demnach auch nicht der „Scheinnektarien". Im Laufe des Vormittags erfolgt die erste Rüsselreaktion der Tiere immer mehr auf den Nektariumflecken, während die Zahl der ersten Rüsselreaktionen an den übrigen Blütenteilen annähernd gleichmässig abnimmt; auch hier ist keinerlei Bevorzugung der „Scheinnektarien" zu erkennen*).

Beobachtungsreihe II: Im Laufe von 8 Tagen stellte ich bei 152 beobachteten Besuchen der beiden Versuchsfliegen-Arten an *Parnassia*-Blüten fest, an welcher Stelle der Blüten Rüsselreaktionen der Tiere erfolgten, wobei die Häufigkeit dieser Reaktionen an den verschiedenen Blütenteilen Berücksichtigung fand. Bei diesen Beobachtungen wurden insgesamt 1074 Rüsselreaktionen registriert. Das bei der Beobachtungsreihe I über die zeitliche Erfassung und Technik der Beobachtungen Gesagte gilt auch hier, wobei nur folgendes zu ergänzen ist: Wenn die beobachtete Fliege beim Blumenbesuch an *Parnassia* den Rüssel mehrmals unmittelbar aufeinanderfolgend an derselben Stelle streckte (was besonders beim Betupfen des Nektariums der Fall ist), wurde diese Reaktionsserie von mir als eine Rüsselreaktion registriert. Wenn sich dagegen das Tier nach Rüsselreaktionen an anderen Blütenteilen in derselben Blüte wiederum zu einer schon betasteten Stelle wandte und hier neuerlich eine Rüsselreaktion erfolgte, dann vermerkte ich in einem solchen Falle zwei Rüsselreaktionen an dem betreffenden Blütenteile. Das unmittelbar aufeinanderfolgende Betupfen verschiedener „Scheinnektarien" ein- und desselben

*) In der letzten Kolonne der Tabelle 1 und in der vorletzten Kolonne der Tabelle 2 ist ein Anstieg der ersten Rüsselreaktionen an den Staubblättern bemerkbar, der darauf hindeutet, dass unter den beobachteten Besuchern Tiere vertreten waren, die vorherrschend Pollen verzehrten. Bei meinen früheren Untersuchungen (Daumann, 1932) konnte ich keine Pollenentnahme der beiden Versuchs-Fliegen an *Parnassia* beobachten, obwohl diese bei Syrphiden sonst nicht selten ist und auch in der Literatur angegeben wird (Müller, 1873; Kullenberg, 1953). Mit der Analyse des Blumenbesuches pollenverzehrender Syrphiden an *Parnassia* will ich mich in einer weiteren Arbeit befassen.

Staminodiums mit dem Rüssel wurde nach Möglichkeit getrennt gezählt. Die Dauer der einzelnen Rüsselreaktionen (kurz oder lang andauernd, letzteres besonders beim Trinken des Nektars) wurde von mir in diesem Zusammenhange nicht in Betracht gezogen. Die Ergebnisse meiner Beobachtungen sind in zwei Tabellen (Tabelle 3 und 4) übersichtlich dargestellt, und zwar wiederum getrennt für *Tubifera pendula* und für *Syrphus balteatus*.

Die Bedeutung der Abkürzungen in diesen Tabellen ist dieselbe wie in den Tabellen 1 und 2. In den acht halbstündigen Beobachtungsintervallen ist oben die Zahl der registrierten Besuche an *Parnassia*-Blüten und die der dabei beobachteten Rüsselreaktionen vermerkt. Hier ist auch (in Klammern) angeführt, wieviel Rüsselreaktionen in dem betreffenden Zeitabschnitt durchschnittlich auf einen Besuch entfallen. Die Zahl der Rüsselreaktionen beider Versuchsfliegen-Arten an den einzelnen Blütenteilen ist in Prozenten (auf eine Dezimalstelle berechnet) und in absoluten Werten (in Klammern) angegeben. So bedeutet z. B. in der Tabelle 3 die erste Kolonne, dass in der Zeit (annähernd) von 7.30 bis 8 Uhr bei 10 beobachteten Besuchen von *Tubifera pendula* an *Parnassia*-Blüten 106 Rüsselreaktionen registriert werden konnten. Auf einen Blumenbesuch entfallen demnach durchschnittlich 10,6 Rüsselreaktionen. Von den beobachteten 106 Rüsselreaktionen erfolgten 22 an den Blumenblättern (das sind 20,7% von 106 Rüsselreaktionen), 20 an den Staubblättern (18,8%), 23 am Fruchtknoten (plus Narbe) (21,6%), 21 an den „Scheinnektarien" (19,8%) und 20 auf den Nektarien (18,8%).

Aus den Tabellen 3 und 4 ist ersichtlich, dass die durchschnittliche Zahl der Rüsselreaktionen (auf einen Besuch bezogen) im Laufe des Vormittags annähernd gleichmässig fällt, was aus der täglich sich wiederholenden allmählichen Änderung der Besuchsweise der Tiere erklärlich ist: bei der „ungeschickten" Besuchsweise werden bei jedem Besuch fast alle Teile der *Parnassia*-Blüte mit dem Rüssel betastet, bei der „geschickten" Besuchsweise wird von den Tieren der Rüssel vorherrschend nur auf den Nektariumflecken gestreckt. [Man vergleiche in diesem Zusammenhange meine genaue Beschreibung zweier solcher Besuche (Daumann, 1932, S. 118f), wo bei dem Besuch einer „unerfahrenen" Diptere in den Morgenstunden 9 Rüsselreaktionen und später vormittags bei dem eines „erfahrenen" Tieres nur 6 Rüsselreaktionen erfolgten.]

So wie aus den Tabellen 1 und 2 geht auch aus den Tabellen 3 und 4 deutlich hervor, dass bei den Besuchen in den Morgenstunden die Rüsselreaktionen annähernd gleichmässig an den verschiedenen Teilen der *Parnassia*-Blüte erfolgen; eine Bevorzugung irgendeiner Stelle in der Blüte, etwa der „Scheinnektarien", ist dabei nicht erkennbar. Die Häufigkeit der Rüsselreaktionen auf den Nektariumflecken nimmt im Laufe des Vormittags ständig zu, während die Zahl der Reaktionen an den übrigen Blütenteilen annähernd gleichmässig abnimmt, wobei die „Scheinnektarien" keinerlei Ausnahmestellung aufweisen. [Auch hier zeigt sich in der Tabelle 4, und zwar in der 6. Kolonne, ein auffallender Anstieg der Rüsselreaktionenzahl an den Staubblättern, der anscheinend durch eine grössere Zahl pollenverzehrender Tiere verursacht wurde; diesbezüglich sei auf die entsprechende Fussnote bei der Beobachtungsreihe I (Tabelle 1 und 2) hingewiesen.]

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass bei der Analyse des Blumenbesuches beider Versuchsarten an unversehrten *Parnassia*-Blüten (621 registrierte Besuche), und zwar unter besonderer Berücksichtigung von Tieren, die mit der Blüteneinrichtung dieser Art noch nicht vertraut sind, keinerlei optische noch andersartige Nahwirkung (Reizwirkung) der „Scheinnektarien" auf die Blumenbesucher (Nahanlockung) festgestellt werden konnte.

Versuche mit künstlich veränderten Parnassia-Blüten

Schon früher wurde von mir (DAUMANN, 1932, 1935) auch auf experimentellem Wege die Bedeutung der „Scheinnektarien" in der *Parnassia*-Blüte für die Fern- und Nahanlockung blumenbesuchender Dipteren geprüft, wobei ich damals allerdings vorherrschend den Besuch „erfahrener" Tiere analysierte. Der Problemsetzung der vorliegenden Arbeit entsprechend habe ich diesmal auch an den künstlich veränderten Blüten vorwiegend das Benehmen von Tieren studiert, die mit den Blüteneinrichtungen unserer Pflanze noch nicht vertraut waren.

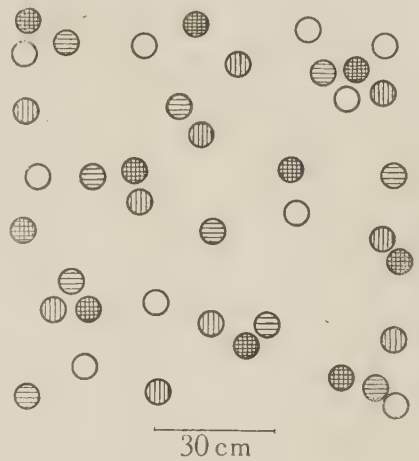


Fig. 1. Situationsplan eines Versuches mit künstlich veränderten *Parnassia*-Blüten (1. Versuchstag). Die kreisförmigen Flächen ohne Schraffierung geben unversehrte Blüten an, die kreisförmigen Flächen mit horizontaler Schraffierung Blüten ohne „Scheinnektarien", die vertikal schraffierten Kreisflächen Blüten ohne Staminodien und die Kreisflächen mit kreuzweiser Schraffierung Blüten ohne Blumenblätter. Blüten anderer Pflanzen, die sich auf der Versuchsfläche befanden, sind nicht eingezeichnet.

Morgens, etwa um 7 Uhr, zu einer Zeit, in der auf meinem Versuchsgelände noch keine Dipteren die Blumen besuchten, wurden von mir auf einem etwa 1 m² grossen Fleck in einer lockeren Gruppe von 46 blühenden *Parnassia*-Pflanzen folgende Veränderungen vorgenommen: 6 Pflanzen wurden entfernt, an 10 Blüten wurden alle Blumenblätter abgetrennt. In 10 anderen Blüten entfernte ich an allen Staminodien mittels einer scharfen Rasierklinge die „Scheinnektarien", wobei deren Stielchen in den Blüten belassen wurden. In 10 weiteren Blüten wurden alle Staminodien entfernt. An den verbleibenden 10 Pflanzen wurden keine Veränderungen vorgenommen. Dabei achtete ich darauf, dass diese 4 Blütenkategorien (Blüten ohne Blumenblätter, ohne „Scheinnektarien", ohne Staminodien, unversehrte Blüten) in der Versuchsgruppe möglichst gleichmässig verteilt waren, wie dies eine Situationsskizze des ersten Versuchstages zeigt (Fig. 1). Eine derartige Versuchsanordnung schuf ich mir in 9 aufeinanderfolgenden Tagen, täglich von neuem und täglich an einer anderen Stelle des Versuchsgeländes. Da ich immer wieder beobachten konnte, dass sich die beiden Versuchsfliegen-Arten in den wesentlichen Einzelheiten des Besuches an *Parnassia*-Blüten gleich verhielten, habe ich bei den im folgenden beschriebenen Versuchen beide Arten nicht mehr getrennt registriert. An den ersten drei Tagen dieser Versuchsserie zählte ich die Anflüge und Besuche der Versuchstiere an den 4 Blütenkategorien. An weiteren sechs Tagen war ich bemüht, bei einer grösstmöglichen Anzahl von beobachteten Blumenbesuchen die Einzelheiten in der Besuchsweise der Tiere unter hauptsächlicher Berücksichtigung der Stelle der ersten Rüsselreaktion und der Häufigkeit der Rüsselreaktionen an den verschiedenen Blütenteilen festzustellen. Anflüge oder Besuche der Dipteren an anderen Blütenarten, die in den Morgenstunden verhältnismässig häufig sind, wurden bei diesen Versuchen nicht berücksichtigt.

Das Ergebnis der ersten drei Beobachtungstage zeigt Tabelle 5.

Die Blüten ohne Blumenblätter wurden weder angeflogen noch besucht, obwohl sie sich in nächster Nähe von zu wiederholten Malen besuchten Blüten (auch solcher ohne „Scheinnektarien") befanden (Fig. 1) und obwohl ihre

„Scheinnektarien" im Sonnenschein glänzten. Andererseits wurden Blüten mit intakten Blumenblättern aber ohne „Scheinnektarien" oder ohne Staminodien von den beiden Versuchsfliegen-Arten annähernd in gleichem Masse angeflogen und besucht wie unversehrte Blüten.

Dieses Verhalten „unerfahrener" Versuchstiere beim Anflug und Besuch von *Parnassia*-Blüten steht im Einklang mit meinen früheren experimentell gewonnenen Ergebnissen (DAUMANN, 1932, 1935), nach welchen beim Blumenbesuch an *Parnassia* die Fernanlockung „erfahrener" Dipteren optisch durch die weissen Blumenblätter erfolgt, wobei die „Scheinnektarien" bedeutungslos sind. Die Tiere, die bei den Nahrungsflügen in den Morgenstunden noch keine Blumenstetigkeit und demnach auch noch keine Bindung an eine Blumenart erkennen lassen, orientieren sich bei den Anflügen anscheinend ausschliesslich optisch durch die Farbe der Blumen, wobei eine Fernanlockung durch den Glanz der „Scheinnektarien" von *Parnassia* nicht erkennbar ist.

Die Tabelle 5 zeigt auch, dass Blüten ohne Staminodien von den „unerfahrenen" Fliegen annähernd in gleichem Masse angeflogen und besucht wurden wie unversehrte Blüten und solche, in denen nur die „Scheinnektarien" entfernt worden waren. In dieser Hinsicht besteht ein Unterschied im Benehmen zwischen „unerfahrenen" und „erfahrenen" Dipteren, welch letztere, wie ich früher zeigen konnte (DAUMANN, 1932, S. 129f), Blüten ohne Staminodien, bezw. mit künstlichen Staminodien aus Glas, zwar regelmässig anfliegen aber nur selten besuchen (die fehlende Duftwirkung der Staminodien!).

Die Tabelle 6, die eine Doppeltabelle darstellt, zeigt die Stellen der ersten Rüsselreaktion, bezw. die Häufigkeit der Rüsselreaktionen an den einzelnen Teilen unversehrter und künstlich veränderter *Parnassia*-Blüten in der Zeit von 7.30 bis 8.30.

Das über die Beobachtungstechnik bei den Tabellen 1—4 Gesagte, sowie die Anordnung der Tabelle 6 und die Bedeutung der benützten Abkürzungen ist dieselbe wie bei den Tabellen 1 bis 4; ausserdem bedeutet St Stielchen der „Scheinnektarien" mit dem Hinweis, dass Rüsselreaktionen an diesen nur in Blüten registriert wurden, in denen die „Scheinnektarien" entfernt worden waren. Die verhältnismässig höheren Zahlenwerte in den beiden Kolonnen, die sich auf Blüten ohne Staminodien beziehen, ist dadurch erklärlich, dass hier Rüsselreaktionen nur an 3 Blütenstellen (in den übrigen Kolonnen an 5) gezählt wurden.

Aus der Tabelle 6 ist ersichtlich, dass in Bezug auf die Stellen der ersten Rüsselreaktion, bezw. auf die Häufigkeit der Rüsselreaktionen an den einzelnen Blütenteilen kein wesentlicher Unterschied zwischen unversehrten Blüten und solchen besteht, in denen die „Scheinnektarien" oder die ganzen Staminodien entfernt worden waren. In den Blüten ohne „Scheinnektarien" betasten die „unerfahrenen" Tiere deren Stielchen, denen die glänzenden Köpfchen nun fehlen, annähernd ebenso häufig wie die „Scheinnektarien" in den unversehrten Blüten. Die verhältnismässig grösseren prozentuellen Schwankungen der ersten Rüsselreaktion (erster Teil der Doppeltabelle 6) sind durch die geringere Zahl der registrierten Besuche bedingt, welche die Grundlage für die Errechnung der Prozentzahlen bildeten, so dass hier die in Klammern angeführten absoluten Werte instruktiver als die Prozentzahlen erscheinen. Wichtig ist dabei der Umstand, dass bei diesen Schwankungen keine Stelle der Blüte, auch nicht die „Scheinnekta-

Tabelle 1. *Tubifera pendula*. 248 registrierte Besuche an *Parnassia*-Blüten (beobachtet im Laufe von 7 Tagen)

Die erste RR auf:	7.30 – 8.00 32 B	8.01 – 8.30 27 B	8.31 – 9.00 30 B	9.01 – 9.30 26 B	9.31 – 10.00 35 B	10.01 – 10.30 35 B	10.31 – 11.00 30 B	11.01 – 11.30 33 B
C	18,7% (6)	18,5% (5)	13,3% (4)	15,3% (4)	11,4% (4)	2,8% (1)	3,3% (1)	6 % (2)
A	18,7% (6)	22,2% (6)	23,3% (7)	23 % (6)	14,2% (5)	5,7% (2)	0 % (0)	12,1% (4)
G	21,8% (7)	14,8% (4)	13,3% (4)	15,3% (4)	11,4% (4)	2,8% (1)	0 % (0)	3 % (1)
S	21,8% (7)	22,2% (6)	13,3% (4)	19,2% (5)	8,5% (3)	5,7% (2)	0 % (0)	3 % (1)
N	18,7% (6)	22,2% (6)	36,6% (11)	26,9% (7)	54,2% (19)	82,8% (29)	96,6% (29)	75,7% (25)

Tabelle 2. *Syrphus balteatus*. 221 registrierte Besuche an *Parnassia*-Blüten (beobachtet im Laufe von 6 Tagen)

Die erste RR auf:	7.30 – 8.00 26 B	8.01 – 8.30 31 B	8.31 – 9.00 24 B	9.01 – 9.30 25 B	9.31 – 10.00 30 B	10.01 – 10.30 30 B	10.31 – 11.00 27 B	11.01 – 11.30 28 B
C	23 % (6)	16,1% (5)	20,8% (5)	16% (4)	13,3% (4)	3,3% (1)	7,4% (2)	0 % (0)
A	19,2% (5)	16,1% (5)	20,8% (5)	16% (4)	13,3% (4)	0 % (0)	48,1% (13)	0 % (0)
G	23 % (6)	19,3% (6)	16,6% (4)	16% (4)	10 % (3)	0 % (0)	7,4% (2)	3,5% (1)
S	15,3% (4)	25,8% (8)	20,8% (5)	12% (3)	13,3% (4)	3,3% (1)	7,4% (2)	0 % (0)
N	19,2% (5)	22,5% (7)	20,8% (5)	40% (10)	50 % (15)	93,3% (28)	29,6% (8)	96,4% (27)

Tabelle 3. *Tubifera pendula*. 79 registrierte Besuche an *Parnassia*-Blüten (beobachtet im Laufe von 4 Tagen)

RR auf:	7.30 – 8.00 10 B – 106 RR (1 B–10,6 RR)	8.01 – 8.30 10 B – 89 RR (1 B – 8,9 RR)	8.31 – 9.00 8 B – 72 RR (1 B – 9 RR)	9.01 – 9.30 12 B – 70 RR (1B–5,8 RR)	9.31 – 10.00 9 B – 78 RR (1B–8,6 RR)	10.01 – 10.30 10 B – 58 RR (1B–5,8 RR)	10.31 – 11.00 10 B – 61 RR (1B–6,1 RR)	11.01 – 11.30 10 B – 53 RR (1B–5,3 RR)
C	20,7% (22)	19,1% (17)	22,2% (16)	15,7% (11)	10,2% (8)	10,3% (6)	4.9% (3)	0 % (0)
A	18,8% (20)	21,3% (19)	19,4% (14)	18,5% (13)	8,9% (7)	6,8% (4)	0 % (0)	1,8% (1)
G	21,6% (23)	17,9% (16)	19,4% (14)	15,7% (11)	8,9% (7)	8,6% (5)	8,1% (5)	0 % (0)
S	19,8% (21)	21,3% (19)	18 % (13)	17,1% (12)	11,5% (9)	12 % (7)	0 % (0)	0 % (0)
N	18,8% (20)	20,2% (18)	20,8% (15)	32,8% (23)	60,2% (47)	62 % (36)	86,8% (53)	98,1% (52)

Tabelle 4. *Syrphus balteatus*. 73 registrierte Besuche an *Parnassia*-Blüten (beobachtet im Laufe von 4 Tagen)

RR auf:	7.30 – 8.00 9 B – 94 RR (1B 10,4 RR)	8.01 – 8.30 8 B – 70 RR (1B 8,7 RR)	8.31 – 9.00 10 B 60 RR (1 B – 6 RR)	9.01 – 9.30 10 B – 65 RR (1B 6,5 RR)	9.31 – 10.00 7 B – 42 RR (1 B – 6 RR)	10.01 – 10.30 11 B – 63 RR (1B 5,7 RR)	10.31 – 11.00 10 B – 52 RR (1B 5,2 RR)	11.01 – 11.30 8 B – 41 RR (1B–5,1 RR)
C	20,2% (19)	21,4% (15)	11,6% (7)	18,4% (12)	14,2% (6)	14,2% (9)	0 % (0)	2,4% (1)
A	21,2% (20)	20 % (14)	21,6% (13)	20 % (13)	9,5% (4)	33,3% (21)	3,8% (2)	0 % (0)
G	19,1% (18)	18,5% (13)	18,3% (11)	20 % (13)	9,5% (4)	15,8% (10)	0 % (0)	0 % (0)
S	19,1% (18)	20 % (14)	20 % (12)	18,4% (12)	11,9% (5)	12,6% (8)	1,9% (1)	0 % (0)
N	20,2% (19)	20 % (14)	28,3% (17)	23 % (15)	54,7% (23)	23,8% (15)	94,2% (49)	97,5% (40)

Tabelle 5. *Tabifera pendula* und *Syrphus balteatus*. 54 registrierte Anflüge und 49 registrierte Besuche an unversehrten und künstlich veränderten *Parnassia*-Blüten (beobachtet im Laufe von 3 Tagen in der Zeit von 7.30 bis 8.30)

Parnassia-Pflanzen mit	Anzahl der Anflüge	Anzahl der Besuche
10 Blüten ohne Blumenblätter	0	0
10 Blüten ohne „Scheinnektarien“	18	18
10 Blüten ohne Staminodien	19	15
10 unversehrten Blüten	17	16

Tabelle 6. *Tabifera pendula* und *Syrphus balteatus*. 64 registrierte Besuche an unversehrten und künstlich veränderten *Parnassia*-Blüten (beobachtet im Laufe von 6 [3 plus 3] Tagen)

Die erste RR auf:	7.30 — 8.30 Blüten ohne S 14 B	7.30 — 8.30 Blüten ohne Staminodien 12 B	7.30 — 8.30 Unversehrte Blüten 13 B	RR auf:	7.30 — 8.30 Blüten ohne S 8 B – 79 RR (1B – 9,8 RR)	7.30 — 8.30 Blüten ohne Staminodien 9 B – 92 RR (1 B – 10,2 RR)	7.30 — 8.30 Unversehrte Blüten 8 B – 88 RR (1 B – 11 RR)
C	7,1% (1)	33,3% (4)	30,7% (4)	C	17,7% (14)	31,5% (29)	20,4% (18)
A	35,7% (5)	41,6% (5)	7,6% (1)	A	20,2% (16)	35,8% (33)	20,4% (18)
G	14,2% (2)	25 % (3)	7,6% (1)	G	18,9% (15)	32,6% (30)	17 % (15)
St*) S	28,5% (4)*)		15,3% (2)	St*) S	21,5% (17)*)		22,7% (20)
N	14,2% (2)		38,4% (5)	N	21,5% (17)		19,3% (17)

rien", eine Bevorzugung aufweist, was sich deutlich im zweiten Teil der Doppeltabelle 6 zeigt, wo bei Berücksichtigung einer grösseren Zahl von registrierten Rüsselreaktionen, die hier die Grundlage für die Errechnung der Prozentzahlen darstellten, die Schwankungen geringer sind. In diesem Sinne ist ein Vergleich des ersten Teiles der Doppeltabelle 6 mit den ersten zwei Kolonnen der Tabellen 1 und 2 und des zweiten Teiles der Tabelle 6 mit den ersten zwei Kolonnen der Tabellen 3 und 4 lehrreich.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Analyse des Blumenbesuches beider Versuchsarten an künstlich veränderten *Parnassia*-Blüten, aus denen die „Scheinnektarien" entfernt worden waren (76 registrierte Besuche), und zwar wiederum unter Berücksichtigung von Tieren, die mit der Einrichtung der *Parnassia*-Blüte noch nicht vertraut sind, keinerlei optische noch andersartige Fern- oder Nahwirkung (Reizwirkung) der „Scheinnektarien" auf die Blumenbesucher (Fern-, Nahanlockung) erkennen liess.

Diskussion

Meine früheren Untersuchungen des Blumenbesuches der beiden Syrphiden-Arten *Tubifera pendula* L. und *Syrphus balteatus* Deg. an *Parnassia palustris* L. (Daumann, 1932, 1935) waren vorherrschend auf Tiere gerichtet, die am natürlichen Standort in den Vormittagsstunden mit den Blüteneinrichtungen dieser Pflanze bereits mehr oder weniger vertraut waren. Die vorliegende Arbeit, die als Ergänzung meiner obgenannten Untersuchungen ausgeführt wurde, ist vorwiegend auf die Analyse des Blumenbesuches beider Syrphiden-Arten an *Parnassia* in den Morgenstunden orientiert, in denen das Benehmen der Tiere am natürlichen Standort zu der Annahme berechtigt, dass ihre Bindung an die *Parnassia*-Blüten über Nacht schwindet. Daher erschienen mir derartige „unerfahrene" Tiere besonders geeignet, die Frage zu prüfen, ob die „Scheinnektarien" in den *Parnassia*-Blüten auf sie irgendwelche Reizwirkung beim Blumenbesuch erkennen lassen.

Die Analyse des Blumenbesuches der beiden genannten Syrphiden-Arten, und zwar von „unerfahrenen" Tieren in den Morgenstunden, ergab, dass weder bei deren Fern- noch Nahanlockung irgendwelche Reizwirkung der „Scheinnektarien" festgestellt werden konnte. Bei der Fernanlockung ist die optische Reizwirkung der Blumenblätter (die weisse Blumenfarbe) erkennbar. Es zeigte sich auch hier, dass die „Scheinnektarien" in den *Parnassia*-Blüten für die Fern- und Nahanlockung (zumindestens der beiden geprüften Syrphiden-Arten an der genannten Örtlichkeit) bedeutungslos und demnach für die Bestäubung entbehrlich sind.

Dieses Ergebnis muss nicht im Widerspruch zu der Feststellung Kuglers (1951) stehen, dass Goldfliegen (Lucilien) durch glänzende tropfenähnliche Gebilde optisch angelockt und zur Rüsselreaktion veranlasst werden. Damit

ist allerdings nicht gesagt, dass alle glänzenden Gebilde in Blüten auf alle Besucher und unter allen Umständen eine optische Reizwirkung ausüben müssen. Es ist ganz gut denkbar, dass z. B. bei der komplexen Nahwirkung der *Parnassia*-Blüte auf „unerfahrene" Vertreter unserer beiden Versuchsfliegen-Arten die optische Wirkung der „Scheinnektarien" unterhalb der Reizschwelle liegen und von Reizwirkungen anderer Blütenteile überdeckt werden könnte. Auch verschiedene Besucher können sich in dieser Hinsicht verschieden verhalten*). Es ist wahrscheinlich, dass Glanzstellen in manchen Blüten auf gewisse Besucher und unter gewissen Umständen anreizend wirken und bestäubungsökologisch von Bedeutung sein können, doch ist es nötig, Fall für Fall genau zu prüfen und sich vor Verallgemeinerungen zu hüten**). KUGLER (1951) kam auf Grund der obgenannten experimentellen Untersuchungen mit Goldfliegen und auf Grund von nur 23 direkt an *Parnassia*-Blüten beobachteten Besuchen von Gold- und Schwebfliegen (21 Besuche bei 3 Versuchen im Flugkasten und 2 Besuche im Freilande) zu der Ansicht, dass die „Scheinnektarien" von *Parnassia* blumenbesuchende Fliegen „täuschen" und unter Umständen die Besuchs- und Bestäubungsaussichten erhöhen können. Die vorliegenden Untersuchungen konnten diese Ansicht KUGLERS nicht bestätigen. Auf Grund mehrjähriger Beobachtungen des Blumenbesuches an *Parnassia* bin ich der Ansicht, dass die Anzahl von insgesamt 23 registrierten Besuchen in unserem Falle wohl nicht ausreicht, um allgemein gültige Deduktionen erfolgreich durchzuführen***). Wenn wir z. B. den ersten Teil der Doppeltabelle 6 mit den Tabellen 1—2 vergleichen, sehen wir, dass erst die statistische Erfassung einer grösseren Zahl genau beobachteter Blumenbesuche ein wenigstens annähernd richtiges Bild der komplizierten Wechselbeziehungen zwischen Blumen und Insekten bieten kann.

Abschliessend sei noch bemerkt, dass unsere Art nach MARTENS (1936) selbstfertil ist und dass die Samen bei Selbstbestäubung bessere Eigenschaften als bei Fremdbestäubung aufweisen; da nach dem genannten Autor in der Blüte von *Parnassia palustris* Selbstbestäubung recht häufig erfolgt, ist unsere Art keineswegs auf die beim Blumenbesuch grösserer Insekten zustandekommende Fremdbestäubung angewiesen.

---

*) Ich habe schon früher (DAUMANN, 1932) darauf hingewiesen, dass selbst unter verschiedenen Dipteren-Arten, die die *Parnassia*-Blüten regelmässig besuchen, nicht unwesentliche Unterschiede im Verhalten beim Blumenbesuch bestehen.

**) Man vergleiche in diesem Zusammenhange die Angaben KULLENBERGS (1953, S. 447) über *Ophrys*.

***) In diesem Zusammenhange sei auch auf die Arbeit von KULLENBERG (1953) über den Insektenbesuch an *Parnassia*-Blüten hingewiesen. Der Autor widmete den Beobachtungen und Versuchen insgesamt 18½ Stunden; dementsprechend soll die Studie, die eine Reihe interessanter Einzelheiten enthält, nach seinen eigenen Worten nur eine einleitende Orientierung darstellen. KULLENBERG, der sich hinsichtlich der blütenökologischen Wertung der „Scheinnektarien" von *Parnassia* der Auffassung KUGLERS anschliesst, konnte und wollte auch nicht eindeutige Ergebnisse seiner Beobachtungen und Versuche anführen, einige seiner Ansichten (z. B. über die optische Fernanlockung durch die weissen Blumenblätter, über die chemische [Duft-] Wirkung der Nektariumflecken) stellen eine Bestätigung meiner früheren Ergebnisse dar. Abschliessend sagt KULLENBERG unter anderem, dass seine Versuche keinen sicheren Aufschluss über die Funktion der „Scheinnektarien" insbesondere bei der Nahanlockung blumenbesuchender Dipteren gaben und dass die Tiere anscheinend ebenso leicht die Nektarien finden, auch wenn die „Scheinnektarien" entfernt worden waren.

Literatur

Daumann, E.: Über die „Scheinnektarien" von Parnassia palustris und anderer Blütenarten. Ein Beitrag zur experimentellen Blütenökologie. — Jahrb. f. wiss. Bot. **77** : 104—149, 1932.
Daumann, E.: Über die Bestäubungsökologie der Parnassia-Blüte II. Ein weiterer Beitrag zur experimentellen Blütenforschung. — Jahrb. f. wiss. Bot. **81** : 705—717, 1935.
Knoll, Fr.: Insekten und Blumen. II. Bombylius fuliginosus und die Farbe der Blumen. — Abh. d. zool.-bot. Ges. Wien **12** : 17—119, 1921.
Kugler, H.: Der Blütenbesuch der Schlammfliege *(Eristalomya tenax)*. — Ztschr. f. vergl. Physiologie **32** : 328—347, 1950.
Kugler, H.: Blütenökologische Untersuchung mit Goldfliegen (Lucilien). — Ber. d. d. bot. Ges. **64** : 327—341, 1951.
Kugler, H.: Einführung in die Blütenökologie. Stuttgart, 1955a.
Kugler, H.: Zum Problem der Dipterenblumen. — Öster. bot. Ztschr. **102** : 529—541, 1955b.
Kullenberg, B.: Nagra iakttagelser över insektebesöken pa blomman av Parnassia palustris L.— Svensk Bot. Tidskr. **47** : 439—448, 1953.
Martens, P.: Pollination et biologie florale chez Parnassia palustris. — Bull. Soc. Royale Bot. Belgique **68** : 183—221, 1936.
Müller, H.: Die Befruchtung der Blumen durch Insekten und die gegenseitige Anpassung beider. Leipzig, 1873.

Anschrift des Verfassers: Doc. Dr. Erich Daumann CSc, Pod Kotlářkou 28, Praha-Smíchov.

BIOL. PLANT. 2 (2) : 113—125, 1960

К экологии опыления цветков белозора болотного

Э. Дауманн

Поступило 1 сентября 1959

Резюме

Частичный экспериментальный анализ посещения цветков белозора болотного (*Parnassia palustris* L.) двумя видами мух (*Tubifera pendula* L., *Syrphus balteatus* L.) с обращением особого внимания на те экземпляры, которые с устройством данных цветков еще не знакомы, указал, что «ложные нектарники» в этих цветках не имеют значения для привлечения мух издали или с близкого расстояния, и поэтому для опыления они безразличны. Этот анализ дополняет прежние результаты автора (Daumann, 1932, 1935) преимущественно на экземплярах выше приведенных видов мух, знакомых уже с устройством цветков белозора болотного. Результатами не подтверждается взгляд Kugler'a (1951), по которому «ложные нектарники» «обманывают» мух, посещающих цветки этого вида и таким образом при определенных обстоятельствах могут повышать шансы на посещение насекомыми и на опыление.

BIOLOGIA PLANTARUM (PRAHA)

2 (2) : 126—137, 1959

Serological Investigation of Taxonic Specificity of Proteins in Various Plant Organs in Some Taxons of the Family *Viciaceae*

Josef Kloz, Věra Turková, Eva Klozová

Department of Plant Physiology and Physiological Genetics, Institute of Biology, Czechoslovak Academy of Sciences, Praha

Received September 29, 1959

Souhrn

Autoři porovnávali taxonní a orgánovou specifitu bílkovin u několika druhů čeledi *Viciaceae* pomocí kvantitativních serologických metod. Každý z orgánů má svoji vyhraněnou orgánovou specificitu bílkovinných znaků při zachování druhové specificity. Ze srovnání výsledků vyplynuly kromě metodických i podrobnější ontogenické a fylogenetické předpoklady a závěry.

Summary

The authers compared taxon and organ specificity of proteins of several species of the family *Viciaceae*, using qantitative serological methods. Each organ possesses a defined organ specificity of protein characters, the species specificity being preserved. On the basis of the results obtained both methodical and more detailed ontogenic and phylogenetic assumptions and conclusions could be drawn.

Introduction

Owing to their specificity, the protein components of living matter represent important characteristics of systematic units (taxons). It is possible to speak directly of protein characters ("protenes" — Moritz and Vom Berg 1931) and of a complex of protein characters ("protenome", i b i d.). In common with all other properties of the taxon, these protein characters are not unchangeable. They undergo a differentiation in the course of long phylogenesis (phylogenetic evólution of protein characters); they also undergo a regular differentiation during ontogenesis (i. e. an organic, or functional, differentiation during ontogenesis, ontogenetic evolution of protein characters). It may

be assumed, particularly with plants, that the relatively small changes in protein characters of a taxon reflect primarily and regularly physiological influences of environmental conditions (cf. also METZNER 1955); and the very fact that these changes (differentiation during ontogenesis and modificability due to environmental conditions) are regular, makes them characteristic for the given taxon. Thus a complex of protein characters represents a characteristic of a taxon which is just as important as all other characters, perhaps even more so as it can be taken to be primary (cf. nucleic acids), while all other characters (products of secondary metabolism, morphological features, physiological reactivity of organisms toward environmental conditions and the like) can be considered as derived or secondary.

Now if a complex of protein characters represents a primary and objective characteristic of a taxon, it appears to be out of the question that this complex a s a w h o l e could display convergence during phylogenesis (just as any c o m p l e x of morphological or other properties; otherwise, cases of convergence may occur with all individually considered characters and properties, whether morphological or not) (cf. also MORITZ 1958, CHESTER 1937).

Specificity of high-molecular compounds, particularly of proteins, thus represents an important characteristic of a taxon and of its ontogenetic phase and existence under given environmental conditions.

From the point of view of methodology, serological methods appear to be most suitable when the specificity of protein characters, whether individual (after their isolation) or of a whole complex, is to be investigated. It is on their level that the degree of objectivity of the results depends. It must also be emphasized that the relationships found by such methods are only comparative, since all taxons have been identified and evaluated by mutual comparison. Besides, the accuracy of the method used here is limited: Differences not exceeding $\pm 3\%$ should be very carefully interpreted, especially with reactions resembling quantitatively homologous reactions; they are practically within the limit of methodical error (cf. also KLOZ 1959).

In the present paper the taxon specificity of organ antigens of some taxons was compared by a quantitative method (for a general treatment of quantitative serology see BOYDEN 1954).

Reserve proteins from cotyledons and structural proteins from the subcotyledonous parts of the seedlings and from mature leaves were compared in these species: *Phaseolus vulgaris* L., *Phaseolus coccineus* L. (two species of the same genus); *Glycine soja* (L) Sieb. Zucc., *Vicia faba* L. (species of two genera belonging with the genus *Phaseolus* to the same family, *Viciaceae*) and in one case also *Ricinus communis* L. *(Euphorbiaceae)*. All these species were compared with respect to the species *Phaseolus vulgaris* L. and *Vicia faba* L.

It should be stressed at this point that this is not the first paper published on the topic of taxonic specificity of proteins in *Viciaceae* seeds; VOM BERG (1932) also determined the organ specificity of plant proteins. The work presented here, however, was carried out by a different (quantitative) method and the more complex experimental arrangement applied makes it possible to draw some new methodological conclusions, and to obtain some new ideas about the problems of plant protein characters.

Material and Methods

Cotyledons, subcotyledonous parts of seedlings, and leaves of the following plants were used:

a) *Phaseolus vulgaris* L., *var. nanus*, sort Veltruská Saxa,
b) *Phaseolus coccineus* L., *lore et semine albo*,
c) *Glycine soja* (L.) Sieb. Zucc., sort Italian Piave,
d) *Vicia faba* L., *var. minor*, sort Chlumecký,
e) *Ricinus communis* L., *var. sanguineus*.

Seeds of the above species were germinated in wet sand at 20—23° C. Usually after a week cotyledons were separated; at the same time the subcotyledonous parts were removed. Leaves of the same species were harvested from plants grown in a green-house; the plants were about five weeks old at the moment of harvesting.

The material was treated further by the procedure described in a previous paper (Kloz 1959). After immunization of rabbits with cotyledon antigens (or only with the globulin fraction) or with those from the subcotyledonous parts of seedlings and from the leaves of *Phaseolus vulgaris* L. and *Vicia faba* L., the following sera were obtained (Table 1).

Quantitative serological reactions were carried out (in duplicate) using the above sera, according to Boyden and co-workers and Libby (Libby 1938 a, b; Boyden, DeFalco 1943; Boyden 1954). Reactions of the same type were always performed with sera of two rabbits (either mixed or with each separately and then an average was taken) in order at least to partly eliminate the individuality of the animal.

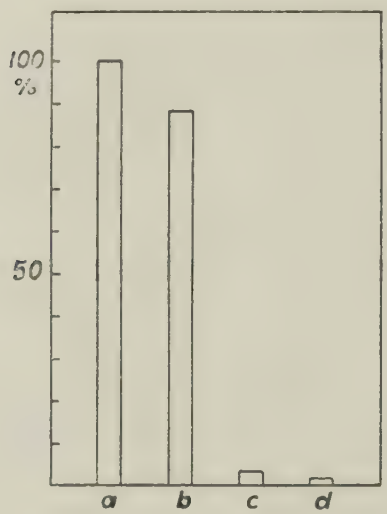


Fig. 1.

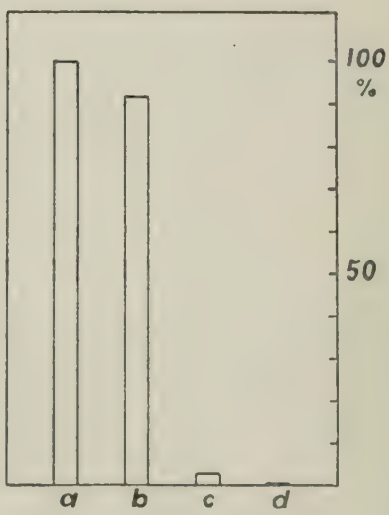


Fig. 2.

Results

In Figs. 1 to 12 the degree of correspondence of protein characters of individual organs of the above taxons is shown with the protein characters of the same organs of the species *Phaseolus vulgaris* L. and *Vicia faba* L.

The degree of correspondence is expressed as a percentage and is related to the homologous reaction taken as 100%.

Thus the diagrams show the results of the following reactions;

Fig. 1. Antiserum (1A, 1B) against reserve proteins of *Phaseolus vulgaris* with the following antigen:

a) reserve proteins of cotyledons of *Phaseolus vulg.* 100%
b) reserve proteins of cotyledons of *Phaseolus coccineus* . . . . 88·2%
c) reserve proteins of cotyledons of *Glycine soja* . . . . . 3·4%
d) reserve proteins of cotyledons of *Vicia faba* . . . . . 1·8%

Fig. 2. Antiserum (2A) against the globulin fraction of reserve proteins of cotyledons of *Phaseolus vulgaris* with the following antigen:

a) globulin fraction of reserve proteins of cotyledons of *Phaseolus vulg.* 100%
b) globulin fraction of reserve proteins of cotyledons of *Phaseolus coccineus* . . . . . 91·5%
c) globulin fraction of reserve proteins of cotyledons of *Glycine soja* . . . . . 3·0%
d) globulin fraction of reserve proteins of cotyledons of *Vicia faba* 0·04%

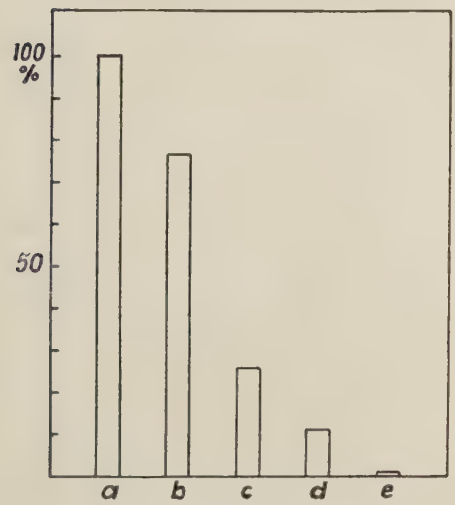


Fig. 3.

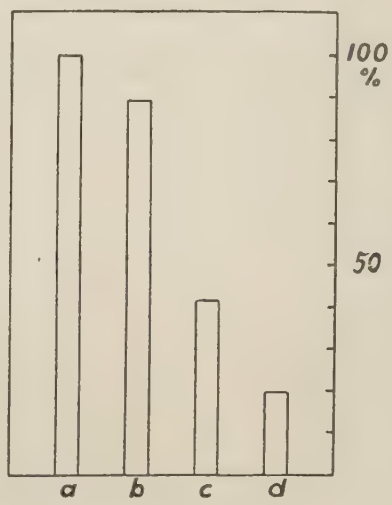


Fig. 4.

Fig. 3. Antiserum (3A+3B) against the proteins of the subcotyledonous parts of *Phaseolus vulgaris* seedling with the following antigen:

a) proteins from the subcotyledonous parts of seedlings of *Phaseolus vulg.* 100%
b) proteins from the subcotyledonous parts of seedlings of *Phaseolus coccineus* . . . . . 76·9%

c) proteins from the subcotyledonous parts of seedlings of *Glycine soja* . . . . . 25·9%
d) proteins from the subcotyledonous parts of seedlings of *Vicia faba* . . . . . 11·4%
e) proteins from the subcotyledonous parts of seedlings of *Ricinus communis* . . . . . 1·0%

Fig. 4. Antiserum (4A+4B) against proteins of *Phaseolus vulgaris* leaves with the following antigens:

a) leaf proteins of *Phaseolus vulgaris* 100%
b) leaf proteins of *Phaseolus coccineus* . . . . . 89·7%
c) leaf proteins of *Glycine soja* . . . . . 41·7%
d) leaf proteins of *Vicia faba* . . . . . 19·9%

Fig. 5. Antiserum (5A) against reserve proteins of cotyledons of *Vicia faba* with the following antigens:

a) reserve proteins of cotyledons of *Phaseolus vulg.* . . . . . 0·0%
b) reserve proteins of cotyledons of *Phaseolus coccineus* . . . . . 0·8%
c) reserve proteins of cotyledons of *Glycine soja* . . . . . 4·6%
d) reserve proteins of cotyledons of *Vicia faba* 100%

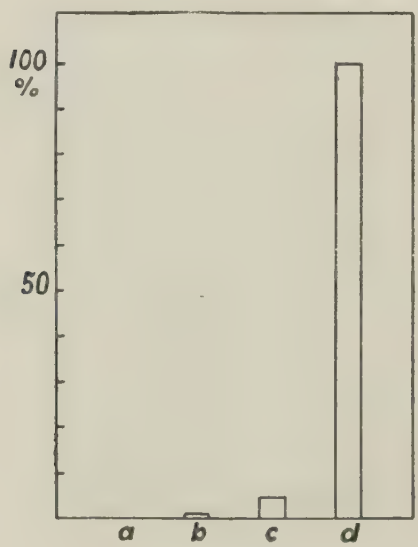


Fig. 5.

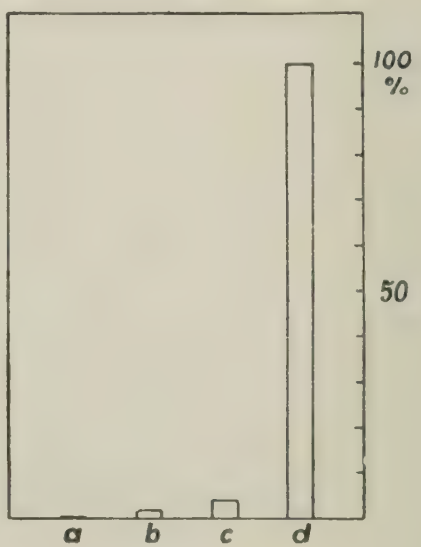


Fig. 6.

Fig. 6. Antiserum (6A) against the globulin fraction of reserve proteins of cotyledons of *Vicia faba* with the following antigens:

a) globulin fraction of reserve proteins of cotyledons of *Phaseolus vulg.* . . . . . 0·05%
b) globulin fraction of reserve proteins of cotyledons of *Phaseolus coccineus* . . . . . 1·6%

c) globulin fraction of reserve proteins of cotyledons of *Glycine soja* 3·5%
d) globulin fraction of reserve proteins of cotyledons of *Vicia faba* 100%

Fig. 7. Antiserum (7A, 7B) against proteins of subcotyledonous parts of *Vicia faba* seedlings with the following antigens:

a) proteins of subcotyledonous parts of seedlings of *Phaseolus vulg.* 42·2%
b) proteins of subcotyledonous parts of seedlings of *Phaseolus coccineus* . . . . . 48·8%
c) proteins of subcotyledonous parts of seedlings of *Glycine soja* 55·9%
d) proteins of subcotyledonous parts of seedlings of *Vicia faba* 100%

Fig. 8. Antiserum (8A, 8B) against leaf proteins of *Vicia faba* with the following antigens:

a) leaf proteins of *Phaseolus vulgaris* . . . . . 1·4%
b) leaf proteins of *Phaseolus coccineus* . . . . . 5·1%
c) leaf proteins of *Glycine soja* . . . . . 9·6%
d) leaf proteins of *Vicia faba* 100%

NB: Sera 3A+3B and 4A+4B (see Table 1) were mixed and reactions carried out with their mixtures; with all the other sera reactions were performed separately and averages derived from the corresponding results.

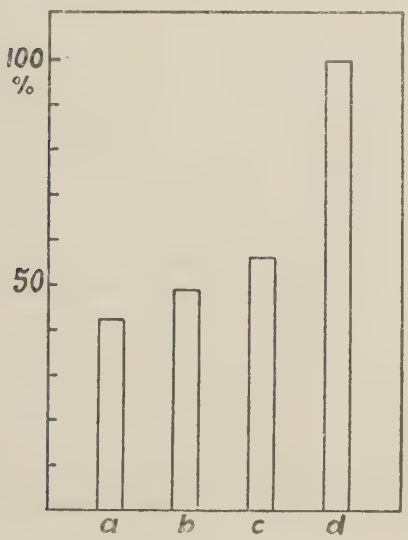


Fig. 7.

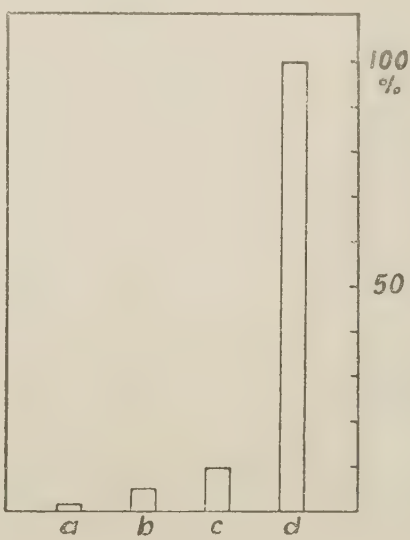


Fig. 8.

In further experiments the degree of correspondence between protein characters of individual organs (cotyledons, subcotyledonous part of seedlings, leaves) of the same taxon were reciprocally compared (*Phaseolus vulgaris* L. — ontogenetic differentiation:

Fig. 9. Antiserum (1B) against reserve proteins of cotyledons of *Phaseolus vulgaris* in reaction with the following antigens:

a_1) reserve proteins of cotyledons of *Phaseolus vulg.* 100%
a_2) proteins of the subcotyledonous part of seedlings of *Phaseolus vulg.* . . . . . 8·9%
a_3) leaf proteins of *Phaseolus vulgaris* . . . . . 5·2%

Fig. 10. Antiserum (3+3B) against proteins of the seedling subcotyledonous part of *Phaseolus vulgaris* with the following antigens:

a_1) reserve proteins of cotyledons of *Phaseolus vulgaris* . . . . . could not be evaluated on account of the impossibility of separating the non-specific and specific parts of the reaction
a_2) proteins of the subcotyledonous part of the seedling of *Phaseolus vulgaris* 100%
a_3) leaf proteins of *Phaseolus vulgaris* . . . . . 23·7%

Fig. 11. Antiserum (4A+4B) against leaf proteins of *Phaseolus vulgaris* with the following antigens:

a_1) reserve proteins of cotyledons of *Phaseolus vulgaris* . . . . . 8·0%
a_2) proteins of the subcotyledonous part of the seedling of *Phaseolus vulgaris* . . . . . 53·4%
a_3) leaf proteins of *Phaseolus vulgaris* 100%

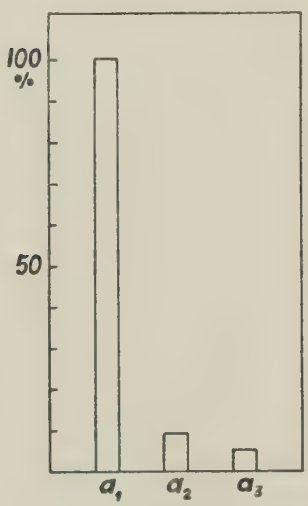


Fig. 9.

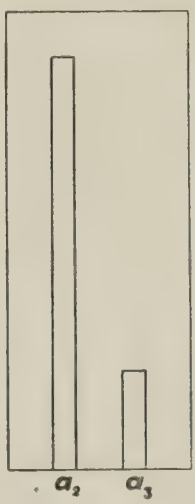


Fig. 10.

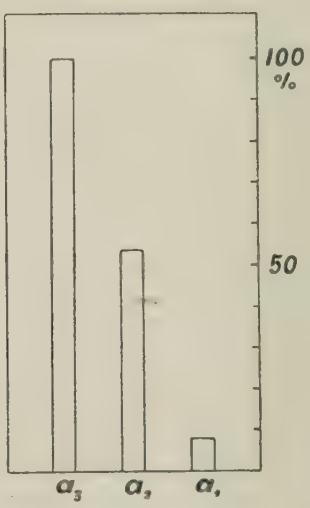


Fig. 11.

Discussion and Conclusions

The present paper proceeds directly from a previously published work (Kloz 1959); it is intended to provide a further methodical basis for the investigation of protein characters of plants and in addition to permit of a closer approach to the whole complex of problems.

It follows from a comparison of the above diagrams that:

1. Protein characters of cotyledons (reserve proteins), of the seedling subcotyledonous part and of leaves display a marked taxonic specificity being characteristic for the given taxon (see also Vom Berg 1932). Hence it follows that complexes of protein characters originating during ontogenetic differentiation of organs possess a strict but new taxonic specificity (Figs. 1—4, 5—8). A proportional correspondence of results in comparing protein taxonic specificity of three organs with several taxons may be taken as evidence for the objectivity of such results obtained by the quantitative serological method. Furthermore its applicability to plant taxonomy has again been demonstrated.

2. Cross reactions are caused by structural similarity of antigens, i. e. by the correspondence of a greater or lesser number of determinant groups on protein characters. When investigating taxons with respect to a g i v e n taxon it may be observed that in fact its closer relatives (species) possess more structural protein similarity among themselves than the more distant taxons (genera, families). However, in the course of investigation the rate at which serological correspondence disappears a regularity may be encountered, namely that this serological correspondence disappears relatively more rapidly with taxons which are closer to the homologous one (with species) than with the more distant ones (with genera and families). This lack of linearity may be accounted for only to a limited degree by the hitherto used method of quantitative evaluation of serological reactions.

3. Protein characters of cotyledons (reserve proteins) display a smaller structural similarity between g e n e r a (they produce weaker cross reactions) while protein characters of the constitutional type (protein characters of leaves and especially of the subcotyledonous parts of seedlings) display a closer structural correspondence between genera (producing stronger cross reactions). In other words, generic differences are more pronounced in reserve proteins; in structural proteins there appears a strikingly better correspondence between genera, the species remaining quite distinct (only in Diagram 8 the correspondence is less marked in one of the two sera with diminished average values). This fact is difficult to explain on the basis of differences in immunization patterns (cf. Table 1) as it is known that prolonged immunization has an effect on the intensity of cross reactions (see e. g. Maurer and Weigle 1954).

The following explanation seems probable. It is assumed that the protein characters of the subcotyledonous part of a seedling (which are likely to be closer to the embryonal part), as well as protein characters of leaves, are phylogenetically older than the reserve proteins of cotyledons. If these phylogenetically old complexes of protein characters ("embryonal" and leaf) are traced they point more pronouncedly to a common origin of different taxons than characters which have undergone differentiation of later stages of phylogenesis (complexes of cotyledon reserve proteins). This fact was pointed out from the morphological point of view by Darwin and it appears that it may be encountered in protein characters similarly.

4. Protein characters of individual organs of the same taxon have structurally relatively little in common (cf. Figs. 9, 10, 11); there exist markedly

Table 1

Antigen	Length of immunization in days	Number of injections	Approx. amount of total protein in mg.	Titer (ring-test read after 20 min.)
1. Reserve proteins of *Phaseolus vulg.* L. animal A)	37	12	145	1 : 32 000
B)	39	5	25	1 : 64 000±
2. Reserve globulins of *Phaseolus vulg.* L. A)	44	5	30	1 : 32 000±
3. Proteins of the subcotyledonous part of seedling *Phaseolus vulg.* L. A)	45	6	60	1 : 16 000 sera
B)	45	6	60	1 : 32 000± mixed
4. Proteins of leaves of *Phaseolus vulg.* L. A)	52	18	370	1 : 8 000 sera
B)	52	18	390	1 : 8 000 mixed
5. Reserve proteins of *Vicia faba* L. A)	62	9	50	1 : 32 000
6. Reserve globulins of *Vicia faba* L. A)	41	7	39	1 : 32 000
7. Proteins of the subcotyledonous part of seedling *Vicia faba* L. A)	53	7	140	1 : 32 000
B)	47	16	180	1 : 16 000±
8. Proteins of leaves of *Vicia faba* L. A)	41	12	176	1 : 32 000±
B)	41	12	176	1 : 32 000±

greater differences in structure between protein characters of different organs of the same taxon than between protein characters of the same organs of different related taxons (species). In other words, the differences arising during differentiation of protein characters during ontogenesis are of the same order of magnitude as those arising during phylogenetic differentiation. It has been assumed that an explanation may be found in biogenetic law.

5. In view of the fact that genera of the same family possess more structurally related constitutional than reserve proteins (while this difference is not observed between species), the conclusion may be reached that in order to obtain a better differentiation between species by means of adsorption of an antiserum with heterologous antigens it is better to use antisera against constitutional proteins and constitutional antigens for adsorption (for the purpose of adsorption a genus of the same family should be used).

This assumption was confirmed by the following example (the method of Duxin and Popova 1937 was used): An antiserum against constitutional proteins of *Vicia faba* L. was prepared from the subcotyledonous part of a seedling. This antiserum was used to precipitate structurally similar antigens from the antigen complex of the same organ of *Phascolus vulgaris* L; after

centrifuging off the precipitate the supernatant was used for a repeated immunization of a rabbit. The antiserum obtained was much better suited for species differentiation than the non-adsorbed (cf. Fig. 12; description of columns is identical as in Figs. 1—4).

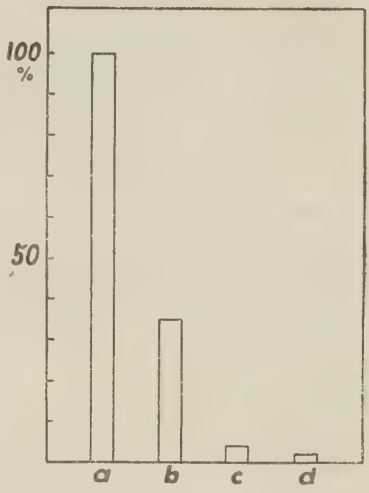


Fig. 12.

6. According to the material and purpose of work it is possible to select the most suitable plant organs as sources of antigens for the investigation of protein characters:

a) Seed reserve proteins. Seed proteins, or possibly only the globulin fraction of seed proteins, were used practically exclusively in all work in comparative plant serology.

This procedure has the advantage that especially in the case of cultivated plants, the material (seeds) is readily available in greater quantities. In addition to this, reserve proteins of seeds are markedly more stable than the complexes of constitutional proteins; they are also more active as antigens for immunization than the constitutional proteins (this may be due to the fact that the complex of reserve proteins is relatively less complicated than those of constitutional proteins and that an animal responds better by the production of antibodies to an immunization by a less complicated antigen system). Lipids and other ballast substances which usually accompany seed proteins can be relatively easily removed (see KLOZ 1959).

A disadvantage of the use of reserve proteins consists in the fact that seeds, especially those of *Viciaceae*, frequently contain non-specific precipitins which, along with immune (even normal) sera, give non-specific reactions. These non-specific reactions, however, can usually be easily distinguished from the specific reactions caused by the binding of antigen to antibody. Attempts at adsorption of serum substances reacting with these non-specific precipitins have so far been unsuccessful; together with non-specifically reacting proteins, specifically reacting antibodies were also precipitated from the serum. This phenomenon is being studied further.

b) Protein antigens of the subcotyledonous parts of seedlings also represent suitable material. They are easier to prepare in a pure state without any undesired admixtures. They produce stronger cross reactions between more distant taxons. They are suitable for adsorption with the purpose of obtaining antisera with an increased differentiating capacity (see sub 5). In working with these antigens, as with the antigens from leaves, the most careful methods of isolation and storing should be applied in order to preserve their natural state.

c) Protein antigens of leaves represent more readily available material, even in those cases where the taxons studied have small and difficultly accessible seeds. As in the case of sub b), they are quite suitable for some genetic studies. Leaves frequently contain some undesirable ballast sub-

stances (tannin, organic acids, alkaloids) which must be definitely removed. Leaf proteins appear to be less active antigens as compared with the reserve proteins. In applying leaf antigens there is a greater risk of interaction of virus antigens (this also can be removed by suitable adsorption or, whenever possible, by using healthy material).

If each of the organs used contains protein characters typical of a taxon, it follows automatically that the objectivity of our results may be controlled concurrently if antigen complexes from at least two organs are used, e. g. if the relationships between taxons are determined, firstly, by using reserve proteins and secondly, by using proteins from the subcotyledonous part of a seedling or possibly from leaves.

References

Boyden, A.: The measurement and significance of serological correspondence among proteins. In the symposium: Serological approaches to studies of protein structure and metabolism — New Brunswick 1954.

Boyden, A., DeFalco, R.: Report on the use of the photronreflectometer in serological comparisons. — Physiol. Zool. **16** : 229—241, 1943.

Chester, K. S.: A critique of plant serology. — Quart. Rev. Biol. **12** : 19—46, 165—190, 294—321, 1937.

Dunin, M. S., Popova, N. N.: Kapeľnyi metod analiza virusov v rastenievodstve. — [The drop method of virus analysis in plant breeding.] — Series "Novoe v selskom khozyaistve", No. 13, 1937. Cit. Jermoljev, Hruška 1937.

Jermoljev, E., Hruška, L.: Serologická metoda určování virových chorob u bramborů. — [A serological method for the identification of virus diseases in potatoes.] Sborník výzk. ústavů zemědělských RČS, vol. 178, Praha 1947.

Kloz, J.: Kolichestvennaya otsenka serologischeskikh reaktsii pri pomoshchi izmerenii pomutneniya v sravnitelnoi serologii rasteny. — [Quantitative assay of serological reactions by means of turbidity estimation in comparative plant serology.]. — Biologia plantarum **1** : 1959.

Libby, R. L.: The photronreflectometer — an instrument for the measurement of turbid systems.— Jour. Immunol. **34** : 71—73, 1938a.

Libby, R. L.: A new and rapid quantitative technic for the determination of the potency of types I and III antipneumococcal serum. — Jour. Immunol. **34** : 269—279, 1938b.

Maurer, P. H., Weigle, W.: Cross reactions between unrelated antigens. — Jour. Immunol. **72** : 119—122, 1954.

Metzner, H.: Veränderungen der Blattproteine bei photoperiodischer Induktion. — Planta **45** : 493—534, 1955.

Moritz, O.: Die Serologie der pflanzlichen Eiweisskörper. Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. VIII : 353—414, Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1958.

Moritz, O., Vom Berg, H.: Serologische Studien über das Linswickenproblem. — Biol. Zbl. **51** : 290—307, 1931.

Vom Berg, H.: Über serologische Organspezifität bei Pflanzen. – Ber. dtsch. bot. Ges. **50** : 93 —99, 1932.

Address: Josef Kloz, Věra Turková a Eva Klozová, Biologický ústav ČSAV, oddělení fysiologie a fysiologické genetiky rostlin, Praha-Dejvice, Na cvičišti 2.

BIOL. PLANT. 2 (2) : 126—137, 1960

Серологические исследования по таксонной специфичности белков в разных органах растений некоторых таксонов семейства бобовых

Й. Клоз, В. Туркова, Е. Клозова
Отделение физиологии растений Биологического института ЧСАН, Прага

Резюме

Данная работа является непосредственным продолжением предыдущей работы (Kloz 1959); является дальнейшей методической платформой для изучения белковых признаков растений и, кроме того, позволяет рассматривать проблематику с некоторых других углов зрения.

Из сравнения графиков вытекает:

1. Белковые признаки семядолей (запасные белки), дальше белковые признаки подсемядольной части прорастающих растений и, наконец, белковые признаки листьев обладают все явной таксонной специфичностью, характеризуют таксон (см. также v. Berg 1932). Из сказанного вытекает, что наборы белковых признаков, вновь возникающих при онтогенетической дифференциации органов, обладают строгой, но новой таксонной специфичностью. Соответствующим совпадением результатов при сопоставлении таксонной специфичности белков трех органов у нескольких таксонов подтверждается объективность данных, полученных с помощью количественного серологического метода. Таким образом вновь подтверждается его применимость для целей систематики растений.

2. Перекрестные реакции (cross-reactions) вызваны структурным сходством антигенов, т. е. сходством большего или меньшего числа детерминирующих групп белковых признаков. При изучении таксонов по отношению к определенному таксону имеют в действительности его более близкие родственники (виды) большее структурное сходство белков между собою чем таксоны более отдаленные. Мы видим, что градиент падения серологического сходства, у таксонов более близких таксону, с которым проводилась гомологическая реакция (у видов) уменьшается относительно быстрее чем у таксонов таковому более отдаленных (у родов, у семейств). Такая нелинеарность может быть вызвана лишь в некоторой степени также применяемым способом количественной оценки серологических реакций.

3. Белковые признаки семядолей (запасные белки) выявляют меньшее структурное сходство между родами (дают более слабые перекрестные реакции), между тем как белковые признаки «конституционные» (белковые признаки листьев и особенно белковые признаки подсемядольных частей прорастающего растения) выявляют большее структурное сходство (дают более интенсивные перекрестные реакции). Другими словами: родовые различия больше в случае запасных белков; у конституционных белков бросается в глаза (только у граф. № 8 менее заметно, и то лишь у одной из двух сывороток, которая снизила средние значения) большее сходство между родами при сохранении хорошей опознаваемости видов. Этот факт трудно объяснить различиями в схемах иммунизации (см. табл. № 1; известно влияние продолжительной иммунизации на интенсивность перекрестной реакции — см. напр. Maurer, Weigle 1954). Напрашивается следующее объяснение: мы предполагаем, что белковые признаки подсемядольной части ростков (которые, повидимиму, сравнительно ближе эмбриональным), и также белковые признаки листьев филогенетически старше признаков запасных белков семядолей. Следовательно, если изучать филогенетически более старые наборы белковых признаков («эмбриональные» и листьев), то они нам больше показывают общее происхождение различных таксонов чем признаки дифференцированные в филогенезе позже. На такое явление обратил внимание в свое время — по отношению к морфологии — Дарвин, и кажется, что мы имеем дело с таким явлением и у белковых признаков).

4. Белковые признаки отдельных органов того же таксона сравнительно мало сходны структурно (см. рг. № 9, 10, 11); заметно бо́льшие структурные различия имеются между белковыми признаками одинаковых органов разных более близких таксонов

(видов). Другими словами: различия при дифференциации белковых признаков в онтогенезе того же порядка как и различия при дифференциации в филогенезе. Мы полагаем, что связь и объяснение следует искать в биогенетическом законе.

Методические выводы:

5. На основании того, что роды того же семейства имеют больше структурно сходных конституционных чем запасных белков (у видов эта разница не проявляется), можно заключить, что для адсорбции антигена гетерогенным антигеном с целью лучшего различения именно видов целесообразнее пользоваться антителами против конституционных белков и конституционными антигенами для адсорбции (для адсорбции использовать какой нибудь род того же семейства). Этот вывод проверен нами на следующем примере (применен нами метод Дунина и Поповой 1937). Мы приготовили антитела против конституционных белков из семядолей прорастающих растений *Vicia faba* L. Данным антителом мы связали структурно близкие антигены из антигенного комплекта того же органа вида *Phaseolus vulgaris* L. и после отцентрифугирования преципитата мы вновь иммунизировали кролика. Полученные антитела гораздо лучше различали виды чем неадсорбированные антитела (см. рис. № 12, обозначения отвечают гр. № 1—4).

6. В зависимости от материала и цели работы мы можем избрать наиболее выгодные органы растений в качестве источников антигенов при изучении белковых признаков:

а) Запасные белки семян. Почти исключительно использовались в работах по сравнительной серологии растений белки семян или только глобулиновые фракции белков семян. Это имеет то преимущество, что этот материал (семена) обычно легче и в большем количестве доступен особенно в случае культурных растений. Кроме того, запасные белки семян явно стабильнее по сравнению с наборами конституционных белков; они также в качестве антигенов для иммунизации активнее конституционных белков (быть может, это вызвано тем, что набор запасных белков сравнительно менее сложен, чем набор конституционных белков и животное лучше реагирует образованием антител при иммунизации менее сложной антигенной системой). От липидов и других балластных веществ, которые обычно сопровождают белки семян, мы легко освобождаемся (см. Kloz 1959). Невыгодой использования запасных белков является то, что семена, особенно у бобовых, довольно часто содержат неспецифические преципитины, которые с имунными (и нормальными) сыворотками дают неспецифические реакции. Однако, данные неспецифические реакции обычно легко отделимы от специфических реакций (вызванных связью антиген-антитела). Попытка адсорбировать вещества сыворотки, реагирующие с этими неспецифическими преципитинами, нам пока не удалась. Вместе с неспецифически реагирующими протеидами улавливались из сыворотки и специфически реагирующие антитела. Этим явлением мы и дальше интересуемся.

б) Белковые антигены подсемядольной части прорастающего растения являются также подходящим материалом. Их легче изучать чистыми, без нежелаемого балласта. Они дают более интенсивные перекрестные реакции между более отдаленными таксонами. Они выгодны для адсорбции с целью получения антител с повышенной различающей способностью (см. sub 5). При работе с ними, также как и при работе с антигенами из листьев, надо строго придерживаться мягких методов изоляции и хранения, чтобы не нарушить их нативности.

в) Белковые антигены листьев являются в большей степени доступным материалом и там, где имеем дело с трудно доступными семенами или мелкими семенами. Они так же как и белки подсемядольной части подходят для некоторых генетических работ. В листьях имеются часто определенные нежелаемые вещества (таннин, органические кислоты, алкалоиды), от которых надо тщательно освободиться. Кажется, что белки листьев являются менее активными антигенами по сравнению с запасными белками. При использовании антигенов из листьев имеется большая опасность интеракции вирусных антигенов (мы можем освободиться от нее или соответствующей адсорбцией, или, где это возможно, использованием здорового материала).

Если каждый из использованных органов содержит белковые признаки, характеризующие таксон, то естественно из этого вытекает, что при работе мы можем контролировать объективность результатов тем, что используем антигенные наборы хотя бы из двух органов, т. е. установим отношения между таксонами как при использовании запасных белков, так и белков из подсемядольной части прорастающих растений, или из листьев.

BIOLOGIA PLANTARUM (PRAHA)

2 (2) : 139—151, 1959

Studies on Pectolytic Enzyme System of *Rhizoctonia solani* Kühn Properties of Protopectinase

K. B. Deshpande

Imperial College, London (at present: Nizam College, Hyderabad A.P. INDIA)

Received October 9, 1959

Souhrn

Byly sledovány fysikálně chemické vlastnosti protopektinázy vylučované *R. solani*. Výsledky lze shrnout do těchto bodů:

1. Preparát protopektinázy usmrcoval buňky i před skončením macerace.

2. Zředění vodou a sterilisovaným roztokem enzymu snižovalo macerační účinnost méně než toxicitu, z čehož plyne, že ve filtrátech kultur byly obsaženy toxiny jiného než enzymového charakteru.

3. Protopektináza byla vysoce thermolabilní; aktivita mizela po pětiminutovém zahřátí při a nad 60° C. Při uskladnění enzymu po 15 dnů při 25° C 80 % aktivity bylo ztraceno.

4. Účinnost a toxicita protopektinázy byla nejvyšší při pH 3—4 a další optimum se projevovalo při pH 7,4.

5. Dialysa způsobovala malou ztrátu účinnosti, kterou bylo možno odstranit přidáním sterilisovaného nedialysovaného roztoku enzymu. Jinou zvláštností dialysovaného roztoku enzymu byla jeho maximální aktivita při pH 6,8 a snížená aktivita při pH 3,5.

6. Protopektináza se srážela rychleji acetonem než ethanolem. Toxicita roztoku sraženiny byla nižší než odpovídalo předpokladu. Tato skutečnost opět ukazuje, že toxické látky, pravděpodobně neenzymového charakteru, byly odstraněny při částečném čištění srážením.

7. Přidáním jednomocných a dvojmocných solí, zvláště ve vysoké koncentraci, k roztoku protopektinázy, způsobovalo určité snížení aktivity; dvojmocné soli byly v tomto směru účinnější. Ponoření zkoumané tkáně do roztoku solí nemělo však vliv na aktivitu protopektinázy.

Summary

The study of physico-chemical properties of protopectinase secreted by *R. solani* was for the first time made and recorded in this paper. The results can be summarised as follows.

1. Protopectinase preparation killed the cells even before maceration was completed.

2. Dilution with water and with autoclaved enzyme solution reduced macerating activity less than toxicity, and thus, indicated that toxins other than enzymes were present in culture filtrates.

3. Protopectinase was highly thermolabile as activity was completely lost after heating for 5 minutes at and above 60° C. When the enzyme was stored at 25° C. for 15 days, there was 80% loss of activity.

4. Protopectinase activity and toxicity was highest at pH 3—4 and there appeared another optimum at pH 7·4.

5. A slight loss of activity occurred on dialysis and was slightly restored by the addition of an autoclaved undialysed enzyme solution. Another peculiarity of the dialysed enzyme solution was that it was most active at pH 6·8 and less active at pH 3·5.

6. Protopectinase was more readily precipitated with acetone than with ethanol. The toxicity of the solution of the precipitate was less than what would have been expected. This again indicated that toxic substances, presumably not enzymic, were removed during the partial purification by precipitation.

7. The addition of monovalent and bivalent salts, particularly in high concentration, to the protopectinase solution resulted in some loss of activity; there was a greater loss with bivalent salts. But soaking test tissue in the salt solutions did not have any effect on protopectinase activity.

Introduction

In the previous paper (Desphande, 1960) various factors responsible for the production of Protopectinase by *R. solani* have been described. It has also been seen there that the effect of the protopectinase on the plant tissue is to separate the cells along the line of middle lamella. In the present paper, not only the physico-chemical properties of the protopectinase solutions but also the toxic effect on the protoplast of the cell following the maceration are studied.

Material and Methods

The material and methods, generally, are similar to those described in the previous paper except the one given below:

Determination of Toxicity

Toxicity of solutions was determined by the method of Tribe (1955), who assumed that a cell is dead when it no longer plasmolyses when placed in a non-toxic hypertonic solution. 20 discs of potato tissue were immersed in 3 ml. of test solution. At regular intervals, 2 discs were removed and transferred to a plasmolysing solution containing a vital stain. The protoplasts which plasmolysed and were, therefore, presumably living, appeared as dark red spots after 5 to 15 minutes treatment and were easily visible to the naked eye. The following plasmolysing solution was prepared freshly for each test:

M/1 KNO_3 2 ml., M/15 phosphate buffer at pH 7·6 = 0.25 ml. and 0·17% neutral red chloride 0·25 ml.

The toxicity was assessed visually according to the following scale:

0 = Discs colourless; no cell plasmolysed, i.e. all cells dead.
1 = Occasional cells alive.
2, 3 & 4. = Proportional increase in the number of plasmolysed cells.
5 = Discs uniformly red; all cells plasmolysed.

Tribe called this scale the Neutral Red Index (N. R.) Using this scale in the present work toxicity is expressed in terms of time taken for discs to have NR of 2·5 i. e. half the cells alive and plasmolysed. This time is indicated by the term D-50 in minutes. The toxicity of a solution is then expressed as 1000/D-50 in minutes.

In all experiments the cell-free filtrates were used to determine the effect of various treatments on protopectinase activity and toxicity. Because of their ready availability throughout the year, potato discs were used in these tests. In addition, all the experiments were conducted at laboratory temperature, i.e. at about 20° C.

Results and Discussion

1. It was Brown (1915) who first proposed that the action of the macerating enzymes might be responsible for cell-separation as well as for disorganisation of protoplasmic membranes resulting in the death of the cells. It is reported by many workers (Brown 1915, Fushtey 1953, Tribe 1955, and Kamal and Wood 1956) that protopectinase preparations of other plant pathogens do not kill the cells before maceration is completed. In order to study this phenomenon with the protopectinase of *R. solani*, two types of tissue, the potato tuber and swede root, were used; 5 discs of each were placed in 2 ml. enzyme solution in a watch glass and R. T. determined. Toxicity was also determined and the D-50 value obtained from each type of tissue. In the control, autoclaved preparations were used. The results are given in Table 1.

Table 1. Protopectinase activity and toxicity of R. solani preparations

Tissue	pH of Enzyme solution	R. T. (Min.)	Toxicity D-50 (Min.)
Potato	3·2	22	8
Swede	3·2	40	20
Control	3·2	> 240	> 240

In spite of the fact that the strain used in this investigation was isolated from damped-off swede seedlings, the enzyme produced by it macerated and killed swede tissue less rapidly than the potato tissue. This may be due to the tissue specificity shown generally by plant pathogens (WELLMAN 1932, PERSON 1944). It is also interesting to note that a large proportion of cells of both tissues were killed before the cells had lost coherence, i.e. the preparation was more toxic than macerating, which is contrary to the results reported by other workers. In addition, the culture filtrate after autoclaving not only lost macerating activity but also the toxicity.

2. Dilution: Active and heat-inactivated crude enzyme solutions were mixed in different proportions to give a series of different concentrations of active enzyme in the same concentration of thermostable substances. The results of the test are expressed in Table 2.

Table 2. Effect of dilution on activity and toxicity of *R. solani* preparations

Concentration % of active enzyme	R. T. (Min.)	D-50 (Min.)
100	24	10
75	27	15
50	30	25
25	72	80
10	81	95
5	111	115
1	210	> 240
Control	> 240	> 240

The results of Table 2 show that up to 50% dilution there is not much loss in macerating activity, but with further dilution there is a gradual loss. Dilution to 100 fold still, however, gives a solution which macerates in 210 minutes. The trends of macerating activity and toxicity on dilution are also similar, although on dilution the toxic effect is more rapidly lost than the macerating effect. The relationship in each case was non-linear and this is shown in Fig. 1.

Table 3. Effect of dilution on protopectinase activity and toxicity

Concentration of active enzyme %	R. T. (Min.)	D-50 (Min.)
100	24	10
80	29	37
60 "	49	67
40	52	67
20	67	112

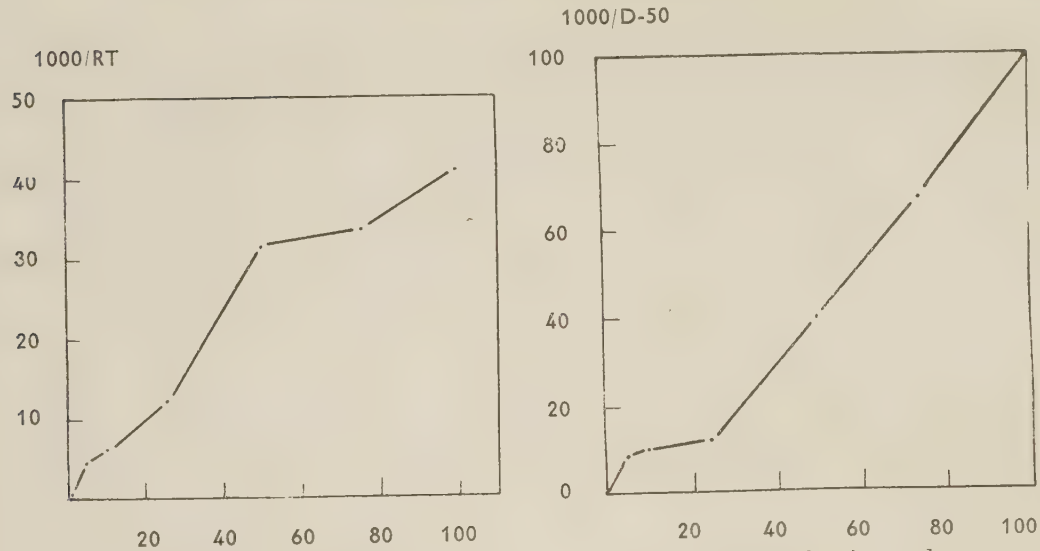


Fig. 1. Effect of dilution on activity and toxicity of protopectinase of *R. solani*.

In a further experiment, an active solution was diluted with water. The maceration activity and toxicity are shown in Table 3. When these data are compared with those of the Table 2, it is clear that the diluting with water has the same effect on maceration but not on toxicity. Here diluting with water reduces toxicity more than does diluting with autoclaved enzyme solutions. This indicates that certain thermo-stable substances strengthening the toxic effect of enzyme are present in culture filtrate.

3. Storage: 10 ml. samples of active enzyme solutions were placed in screw-capped bottles and stored under a few drops of toluene at —16, 5, 10, 15, 20 and 25° C. Protopectinase activity was tested with potato slices after 1, 5, 10 and 15 days storage. Results are presented in Fig. 2.

There was no loss in activity after storage at —16° C. After 5 days at 5° C there was very slight loss and not much more after 15 days. But loss was 50% at 15° C. after 15 days

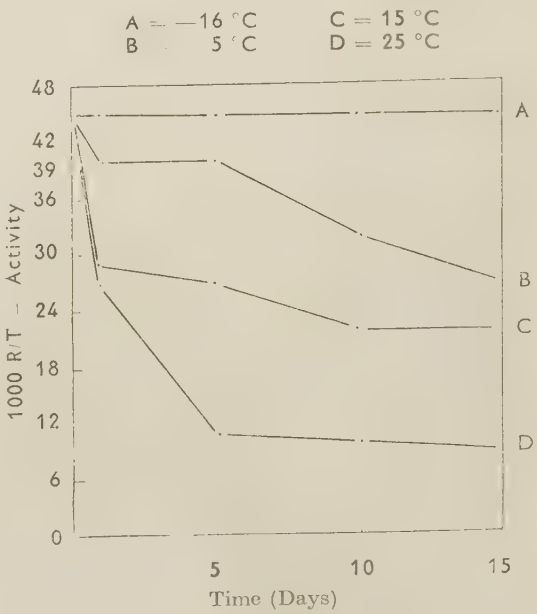


Fig. 2. Effect of storage on activity of protopectinase of *R. solani*.

Table 4. Effect of pH on activity and toxicity of Protopectinase preparation

pH	R. T. (Min.)	D-50 (Min.)
2·2	240	52
2·6	80	37
3·4	32	22
3·7	28	10
4·6	38	37
5·2	45	67
6·7	58	67
7·4	47	67
8·6	65	82
9·0	> 240	> 120

storage and 80% at 25° C. This result indicates that enzyme is thermolabile.

4. pH: Various workers have reported that pH optimum for protopectinase preparations of different pathogens differs widely. The macerating activity and toxicity of *R. solani* preparations were, therefore, determined over a pH range of 2—9 with potato discs. In preliminary experiments it was found that pH of solutions changed little during maceration and so no buffer was used. The results are given in Fig. 3 and Table 4.

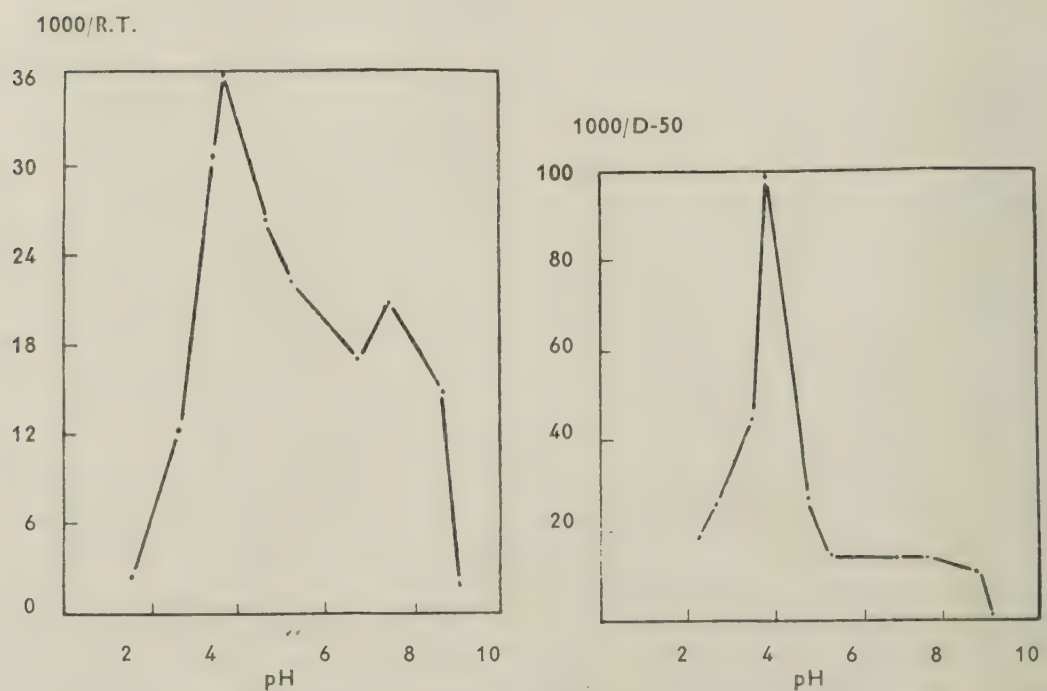
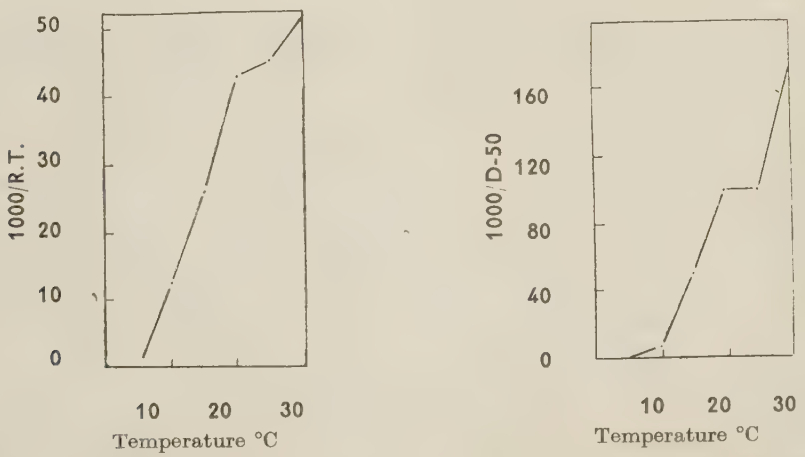


Fig. 3. Effect of pH on activity and toxicity of protopectinase of *R. solani*.

The trends of protopectinase activity and those of toxicity were similar over the pH range 2·6 to 8·6 and were maximum at or near 3·7. When these results are considered in relation to the growth of the fungus which grows well over a wide range of pH values, the difference between their optimum pH values becomes very clear, which are pH 3·7 and pH 7·0 respectively (DESHPANDE, 1956). Another peculiarity is that there appears to be a second high value for activity at about pH 7·4. This result is interesting in view of later results for the polygalacturonase activity at a similar pH. Two pH optima for protopectinase activity have been also reported for the enzyme of *Botrytis cinerea* by JARVIS (1953).

5. Temperature: To study the effect of temperature on the activity of enzyme preparations, 5 ml. samples were placed at 5, 10, 15, 20, 25 and 30° C, and left as such for 5 minutes to attain the desired temperature. The results are presented in Fig. 4 and indicate that with a rise in temperature between 5 and 30° C. both activity and toxicity increased.



Fig· 4. Effect of temperature on activity and toxicity of Protopectinase of *R. solani*.

6. Thermal Inactivation: The heating treatment which has been used by some workers like KAMAL (1954) for separating maceration effect from toxicity was also employed here. The samples of enzyme solution were heated in test tubes kept in water baths at temperatures from 20 to 100° C. Thin walled test tubes were supported in the water bath for at least 5 minutes before adding 5 ml. of the enzyme solution to the bottom of the tubes from a pipette. A thermometer was placed inside the tube and the time required for the solution to reach a particular temperature was noted. It ranged from 1 minute at the lower to 3 minutes at the higher temperatures. The enzyme was then kept at a particular temperature for 5 minutes longer. After this the tube was removed from the water bath and placed immediately in ice-water. When all samples had been treated, the activity and toxicity were measured in the usual way. The results are given in Table 5.

Table 5. Effect of heating on Protopectinase activity and toxicity

Temperature °C	R. T. (Min.)	D-50 (Min.)
20	24	10
30	30	37
40	33	52
50	81	112
60	1200	> 240
70	> 1440	> 240
80	> 1440	> 240
90	> 1440	> 240
100	> 1440	> 240
Control	> 1440	> 240

There was a steady loss of activity and toxicity after treatment from 20 to 50° C. At 60° C. there was an almost complete loss of activity which was not recovered during further treatment at higher temperatures. The trends of the response of maceration and toxicity were similar and no separation between these two effects was, therefore, obtained.

7. Dialysis: 20 ml. of a crude enzyme solution was placed in a cellophane tube. A few drops of toluene were also added. The tube was suspended in a litre-beaker and dialysed against running tap-water for 24 hours. During dialysis the enzyme solution lost its colour, became colourless and its pH increased from 3·2 to 6·8. The dialysed enzyme solution was tested at pH 6·8 and 3·6 and tested after the treatments given in Table 6 which also contains the results of the experiment.

There was a slight loss of macerating activity on dialysis and this was restored by the addition of an autoclaved enzyme solution. It is interesting to note that diluting the active preparation with water reduced toxicity more than diluting with an autoclaved solution. This result confirms the previous one given in Tables 2 & 3. Moreover, addition of autoclaved enzyme always increased the toxicity of the preparation. Another interesting feature was that the macerating activity of the dialysed preparation was, if anything, slightly higher at the pH 6·8 to which it had drifted than at pH 3·6; in contrast, the activity of the undialysed preparation was higher at pH 3·2 than at pH 6·8; showing similarity with the results obtained for polygalacturonase activity. These results suggest that compounds of low molecular weight which are removed from the enzyme preparation on dialysis might be necessary for full expression of activity and toxicity at pH 3·2.

8. Effect of Precipitation: In this method of purification acetone and absolute alcohol were pre-cooled overnight at −16° C. Next morning 10 ml. of enzyme solution was mixed with the precipitants in different proportions to give final concentration of 50, 67, and 75%. The tubes were plugged and kept at 4° C. overnight to settle the precipitates. The solution containing the precipitates were centrifuged at 8000 r.p.m. for 10 minutes

Table 6. Effect of dialysis on activity and toxicity of Protopectinase preparation

*Treatment	R. T. (Min.)	D-50 (Min.)
Dialysed enzyme and distilled water	56	50
Dialysed enzyme and autoclaved enzyme	42	37
Undialysed enzyme + distilled water	42	36
Undialysed enzyme + autoclave enzyme	34	23
Dialysed enzyme at pH 3·6	38	55
Dialysed enzyme at pH 6·8	28	68
Active crude enzyme at pH 3·2	24	10
Active crude enzyme at pH 6·8	58	67
Control (autoclaved enzyme at pH 3·2)	> 240	> 240

* Same dilution of enzyme in each case and all were tested at pH 3·5 unless otherwise stated.

in the graduated glass tubes. The supernatant was decanted and most of the rest of the precipitant was drained off with filter paper. The last trace of the precipitant was removed by placing the tubes under vacuum for 20 minutes. The amount of the precipitate was assessed by estimating the volume occupied by it in the graduated centrifuge tubes. Each precipitate was dissolved in water corresponding to $^1/_2$ the volume of the original enzyme solution. After allowing the mixture to stand for 1 hour at 4° C., it was centrifuged to remove the insoluble residue. The clear solution was used for determination of protopectinase activity and toxicity. The precipitates at 50% concentration of acetone and ethanol were small and so not tested. The precipitates obtained from alcohol were whitish and flocculent whereas those from acetone were brownish and sticky. The results of the test are given in Table 7.

From the results it is clear that the maximum recovery of activity was obtained with acetone at a final concentration of 67%. Further increase in the concentration increased the amount of precipitate, but there was a fall in the activity. Ethanol was found less effective as a precipitant. Considered in relation to the results shown in Table 6, the toxicity of solutions of the precipitates was less than would have been expected. This indicates that the toxic substances, presumably not enzymic in nature, were removed during the partial purification accomplished during the process as described above.

Table 7. Effect of precipitation on activity and toxicity of Protopectinase solution

Treatments %	Wt. of the precipitate (gm.)	pH	R. T. (Min.)	D-50 (Min.)
Alcohol — 67	0·0015	3·5	66	112
Alcohol — 75	0·0102	3·6	78	98
Acetone — 67	0·0253	3·5	37	82
Acetone — 75	0·0366	3·7	66	98

Table 8. Effect of $CaCl_2$ and NaCl on activity of protopectinase solution

Salt	Concentration (M)	R. T. (Min.)
$CaCl_2$	0·2	> 1200
$CaCl_2$	0·08	360
$CaCl_2$	0·04	240
NaCl	0·2	99
NaCl	0·08	63
NaCl	0·04	69
Control	—	42

However it can be noted here that the loss of activity of the enzyme after treating it with 75% precipitant might be due to partial denaturation of protein, as that treatment for 18 hours at 4° C. appears to be a little drastic.

9. Effect of Salts: During the studies on the secretion of protopectinase it was reported that Ca^{++} instead of stimulating, somewhat reduced the production of this enzyme (DESHPANDE 1959). The effect of certain mono-valent and divalent cations on the activity of a protopectinase of rather low activity was therefore determined. Results are given in Table 8.

In the second experiment with a more active preparation only divalent salts were used. The results are given in Table 9.

In the third experiment in addition to the above salts, KCl was also included. The results of these experiments were essentially the same. Both monovalent and bivalent salts reduced the activity of protopectinase, particularly more at the higher concentrations. The salts of divalent cations were more inhibitory than salts of monovalent cations.

Later the potato discs, of uniform thicknes in every case, were immersed in the salt solutions thereby increasing the salt concentration of the tissue

Table 9. Effect of various concentrations of divalent salts on activity of protopectinase solutions

Salt	Concentration (m)	R. T. (Min.)
$BaCl_2$	0·2	> 240
$BaCl_2$	0·04	57
$BaCl_2$	0·01	53
$CaCl_2$	0·2	> 240
$CaCl_2$	0·04	60
$CaCl_2$	0·01	39
$MgCl_2$	0·2	84
$MgCl_2$	0·04	42
$MgCl_2$	0·01	33
Control	—	27

Table 10. Effect of soaking discs in 0·1 M. $CaCl_2$ on Protopectinase activity

	Treatment	R. T. (Min.)
a)	Discs soaked for 3 hours in 0·1 M $CaCl_2$, washed in water and placed in active enzyme solution	20
b)	Discs treated as in (a) but not washed; surplus $CaCl_2$ removed by filter paper	23
c)	Discs soaked for 3 hours in distilled water and then placed in enzyme solution	24
d)	Discs as in (c), but later placed in enzyme solution containing 0·1 M $CaCl_2$	> 240

Table 11. Effect of soaking discs on 0·1 M solutions of salts on Protopectinase activity

Salt	Treatment	R. T. (Min.)
$BaCl_2$	a	51
$BaCl_2$	b	66
$BaCl_2$	d	> 360
$CaCl_2$	a	75
$CaCl_2$	b	63
$CaCl_2$	d	> 360
$MgCl_2$	a	75
$MgCl_2$	b	74
$MgCl_2$	d	> 360
KCl	a	66
KCl	b	78
KCl	d	106
NaCl	a	75
NaCl	b	81
NaCl	d	122
Control	c	75

and used as test tissue; it was found that protopectinase activity was not reduced. The treatments and the results obtained are summarised in Table 10 and 11.

Similar results were obtained in both experiments because the test tissue and quantity of enzyme solution used were similar. These results indicate that in both the cases of (a, and (b), the salts were washed away and/or their solution was so much diluted that its inhibitory effect was nil.

Acknowledgment

The author expresses his sense of gratitude to Dr. R. K. S. Wood, Reader, University of London, for his help and guidance in this investigation. He also wants to thank his colleague, Thakur Ratan Singh for his help in the preparation of the manuscript.

References

Brown, W.: Studies in the Physiology of Parasitism I. The action of *Botrytis cinerea*. Ann. Bot. Lond., **29** : 313—48, 1915.

Deshpande, K. B.: Studies on the Physiology and control of *Rhizoctonia solani* Kühn. Ph. D. Thesis, University of London, 1956.

Deshpande, K. B.: Studies on Pectolytic Enzyme of *Rhizoctonia solani* Kühn: I. Production of Protopectinase: J. Biol. Sci., **3** (1) : in Print, 1960.

Fushtey, S. G.: Studies on the cell-killing action of extracts derived from various fungi and bacteria. Ph. D. Thesis, University of London, 1953.

Jarvis, W. R.: A comparative study of the pectic enzymes of *Botrytis cinera* Pers., and *Bacterium aroideae* (Townsend) Stapp., plant pathogens of the soft-rotting type. Ph. D. Thesis, University of London, 1953.

Kamal, M.: Physiological studies of cotton wilt and of the causal pathogen, *Verticillium dahliae* Kleb. Ph. D. Thesis, University of London, 1954.

Kamal, M. and Wood, R. K. S.: Pectic enzymes secreted by *Verticillium dahliae* and their role in the development of the wilt disease of cotton Ann. appl. Biol. **44**, 322—40, 1956.

Person, L. H.: Parasitism of *Rhizoctonia solani* on beans. Phytopathology, **34** : 1056—1068, 1944.

Tribe, H. T.: Studies in the Physiology of Parasitism. XIX. On the killing of plant cells by enzymes from *Botrytis cinerea* and *Bacterium avoideae*. Ann. Bot. Lond., N. S. **19** : 351—68, 1955.

Wellman, F. L.: *Rhizoctonia* bottom rot and head rot of cabbage. J. agric. Res. **45** : 461—9, 1932.

Wook, R. K. S.: Pectic enzymes secreted by pathogens and their role in plant infection. Symp. Soc. gen. Microbiol., **5** : 263—93, 1955.

Address: Dr. K. B. Deshpande, 4—4—4, Sultan Bazar, Hyderabad A. P. — 1 India

BIOL. PLANT. 2 (2) : 139—151, 1960

Изучение пектолитической системы энзимов у *Rhizoctonia solani* Kühn: Свойства пектиназы

К. Б. Дешпанд

Имериал Колледж, Лондон (ныне — Низам Колледж, Хайдарабад, Индия)

Резюме

В работе даны первые результаты исследований по изучению физико-химических свойств протопектиназы, выделяемой грибом R. solani.

1. Препарат из протопектиназы убивал клетки еще до того, как происходила полная мацерация.

2. Разбавление водой и раствором энзима, обработанного в автоклаве, понижало способность к мацерации меньше, чем токсичность. Этим можно доказать, что в фильтратах культур присутствовали также и токсины, отличающиеся от энзимов.

3. Протопектиназа была очень термолабильна, так как полностью потеряла активность после нагревания до 60°C и выше в течение 5 минут. При хранении энзима при 25 °C в течение 15 дней препарат потерял 80% активности.

4. Активность и токсичность протопектиназы была наивысшей при pH 3—4, а кроме того, наблюдался еще один оптимум при pH 7,4.

5. Слабая потеря активности происходила при диализе и слегка восстанавливалась при прибавлении недиализированного раствора энзима, обработанного в автоклаве.

Другой особенностью раствора энзима после диализа являлось то обстоятельство, что он был наиболее активным при pH 6,8 и наименее активным при pH 3,5.

6. Протопектиназа легче осаждалась ацетоном, чем этиловым спиртом. Растворением осадка получался раствор, токсичность которого была гораздо меньше, чем следовало ожидать. Это снова доказывало, что токсические вещества не имеют, вероятно, энзиматический характер. Они были удалены при частичной очистке путем осаждения.

7. Прибавление к раствору протопектиназы одновалентных и двухвалентных солей, особенно в большой концентрации, влекло за собой некоторую потерю активности; большая потеря была в случае двухвалентных солей. Однако, намачивание ткани, на которой производились опыты, в растворе солей не оказывало никакого действия на активность протопектиназы.

BIOLOGIA PLANTARUM (PRAHA)

2 (2) : 152—164, 1960

The Influence of Humus Acid on the Respiration of Plant Roots

MIROSLAVA ŠMÍDOVÁ

Department of Plant Physiology and Soil Biology, Faculty of Natural Sciences, Charles University, Praha

Received October 13, 1959

Souhrn

Kyselina humusová (Humussäure Riedel de Haen AG. Seelze — Hannover) v koncentraci 0.01% zvyšuje intensitu dýchání kořenů rostlin pěstovaných ve vodních kulturách, a to jak spotřebu O_2 tak také produkci CO_2, zatím co $RQ(CO_2 : O_2)$ se jejím působením zvyšuje jen nepatrně. K pokusům bylo použito rostlin ozimé pšenice Pyšelka (*Triticum vulgare* VILL.), kukuřice Zajíčkův český koňský zub (Zea mays L.) a tykve Veltruská velkoplodá (*Cucurbita maxima* L.). Spotřeba O_2 i produkce CO_2 byly stanovovány u odřezaných kořenových špiček přímou Warburgovou metodou. Bylo zjištěno, že vlivem kyseliny humusové zvyšuje se nejen intensita dýchání kořenů pokusných rostlin, ale také délka a váha jejich sušiny (u všech druhů pokusných rostlin), u kukuřice a tykve i váha sušiny nadzemní části, což svědčí o tom, že zvýšená intensita dýchání byla spojena s intensivnějším růstem rostlin.

Summary

Humus acid (Humussäure Riedel de Haen AG. Seelze-Hannover) in 0·01% concentration increases the respiration intensity of plant roots grown in water cultures both as regards O_2 consumption and CO_2 production, while RQ ($CO_2 : O_2$) is only very slightly increased. The plants used in these experiments were the winter wheat Pyšelka (*Triticum vulgare* VILL.), maize Zajíček's "Český koňský zub" (*Zea mays* L.) and the gourd Veltrusská velkoplodá (*Cucurbita maxima* L.). O_2 consumption and CO_2 production were determined on separated root tips by the direct Warburg method. It was found that the effect of humus acid is not only to increase respiration intensity in the roots of the experimental plants, but also their lengths and dry weights (for all

experimental plants); for maize and gourd the dry weights of overground parts were also increased, which indicates that increased respiration intensity was linked with more intensive growth of the plants.

Introduction

The favourable effect of humus on plant growth has been established by a number of authors and has been explained by them in a variety of ways. Particularly during the last decades, many writers have attempted to attribute the effect to the physiological action of humus compounds on metabolism.

Many research workers have directed their attention to the effect of humus on plant respiration, particularly of roots, which as the main organs for the intake of nutrients come into direct contact with the humus substrate. All these workers (Biber and Magaziner 1951, Khristeva 1953, 1955, Gumiński et al. 1955, Flaig and Saalbach 1955, 1956, Tichý 1956, Šmídová 1957, etc.) observed increased respiration of plant roots in experiments with very varied humus substances. Since, however, they used various methods for the determination of respiration intensity and expressed their results in various ways (O_2 consumption of roots of intact plants, with separated roots, with root homogenate; by oxydase intensity, by dehydrase intensity), it is very difficult to compare their results. The humus compounds which they used were very various, which also complicates the comparison of their results.

Gumiński et al. (1955) found in experiments with intact plants that the RQ ($CO_2 : O_2$) of plant roots increases under the influence of humus, particularly under conditions of insufficient aeration (non-aerated water cultures). In her previous work the author (Šmídová 1957) found that O_2 consumption is increased by Na-humate in concentrations of 0·001 to 0·01%. This applied both in the case of separated root tips and also with root homogenate from wheat plants grown in non-aerated water cultures. The production of CO_2 was not followed, however, and so it was not possible to determine the RQ.

Material and Methods

The experimental plants were winter wheat Pyšelka (*Triticum vulgare* Vill.), Zajíček's "Český koňský zub" maize (*Zea mays* L.) and the gourd "Veltrusská velkoplodá" (*Cucurbita maxima* L.). Grains of wheat and maize and gourd seeds (with testas removed) were left to germinate in Petri dishes in redistilled water and in 0·01% humus acid solution (Humussäure Riedel de Haen AG. Seelze-Hannover). When the rootlets were 0·5 to 1·0 cm. long the seedlings were planted in batches of 20 in glass cultivation vessels of 200 ml. volume for wheat, 350 ml. for maize and gourd. The vessels were filled with redistilled water or 0·01% humus acid solution. With wheat some experiments were carried out with Knop's solution (composition according to Prát—Řetovský p. 46, 1951), which was diluted with redistilled water in the proportion of 1 : 3, and 0·01% humus acid in the above solution. The vessels were covered with sterile muslin impregnated with paraffin.

The plants were grown in the cultures for two weeks at the most and the culture solutions

were not changed during this period (loss of evaporated and transpired water was made up with redistilled water), nor were they aerated.

Each experiment was carried out with three times the number of repetitions necessary from the point of view of sample taking. Samples were taken every day in the case of wheat; every second day for maize and gourd. Each experiment was repeated five times and the results entered are averages of all repetitions. Wheat and maize plants were grown at a constant temperature of 20° C with 16 hours of artificial daylight illumination. (3 fluorescent tubes TUNGSRAM 40 W F. G. COOLWHITE 26 20 T 8 F A 017 IMR and 3 tubes TESLA 40 W 2000 Lm B MR 120 cm. in length, distance between the tubes 12 cm., distance from experimental plants 90 cm.). The gourd plants did not grow well in fluorescent light and were therefore grown in the laboratory in daylight.

Respiration intensity was determined on separated root tips. Absorbed O_2 and produced CO_2 were determined by the direct Warburg method at 26° C. Root tips were cut off in lengths of 0·5 and 1·0 cm. and left for an hour in redistilled water. They were then carefully dried with filter paper, counted off in fifties, quickly weighed and put into the flasks of the Warburg apparatus. There was 2·0 ml. of redistilled water in the main flask. For the determination of Q O_2 there was 0·2 ml. of 30% NaOH in the central flask. For determination of CO_2 production 1·0 ml. 5 mN HCl of resultant pH = 3·0 was added from the side arm at the start and conclusion of the experiment, in order to exclude the CO_2 absorbed in the main solution. The volume of the roots was calculated from the fresh weight assuming that 1 g. = 1 ml., which approximately corresponds to the values measured on the calibrated cylinder. Values for Q O_2 and produced CO_2 are given in the tables in μl per 1 g. of fresh weight of roots for 10 min. and the ratio $CO_2 : O_2$.

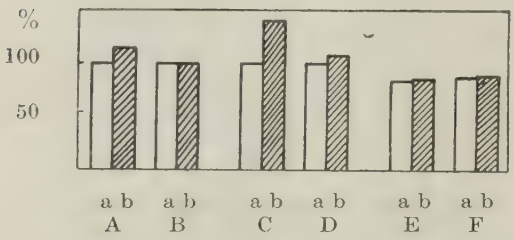


Fig. 1.

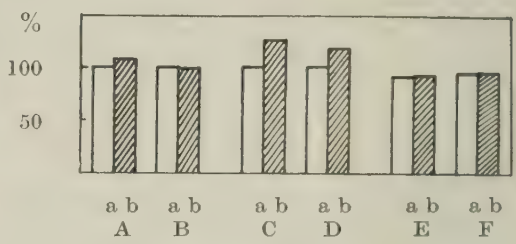


Fig. 2.

Fig. 1. The influence of humus acid on the growth of wheat in series with distilled water (Age 14 days — stage 3 leaves)

A = fresh weight of overground parts; a = control — average weight of one plant = 115 mg., b = 0·01% humus acid solution — average weight of one plant = 130 mg.

B = dry weight of overground parts; a = control — average weight of one plant = 17·6 mg., b = 0·01% humus acid solution — average weight of one plant = 17·6 mg.

C = fresh weight of roots; a = control — average weight of one plant = 46 mg., b = 0·01% humus acid solution — average weight of roots of one plant = 65 mg.

D = dry weight of roots, a = control — average weight of roots of one plant = 5·80 mg., b = 0·01% humus acid solution — average weight of roots of one plant = 6·25 mg.

E = water content of overground parts; a = control, b = 0·01 humus acid solution.

F = water content of roots; a = control; b = 0·01% humus acid solution.

Fig. 2. The influence of humus acid on plant growth in series with water culture (Age 4 days — phase of 3rd leave)

A = fresh weight of overground parts; a = control — average weight of one plant = 211 mg., b = 0·01% humus acid solution — average weight of one plant = 225 mg.

B = dry weight of overground parts; a = control — average weight of one plant = 20·20 mg., b = 0·01% humus acid solution — average weight of one plant = 19·90 mg.

C = fresh weight of roots; a = control — average weight of roots of one plant = 109 mg., b = 0·01% humus acid solution — average weight of roots of one plant = 136 mg.

D = dry weight of roots; a = control — average weight of roots of one plant = 5·40 mg., b = 0·01% humus acid solution — average weight of roots of one plant = 6·40 mg.

E = water content of overground parts; a = control, b = 0·01% humus acid solution.

F = water content of roots; a = control, b = 0·01% humus acid solution.

The general appearance of the plants (see photo) was observed as well, and both fresh and dry weights of overground parts and of roots and water content were measured.

The t-test according to K. Hrubý (1950) was used in the statistical evaluation for determining significance.

Results

General appearance, fresh and dry weights

Under the influence of humus acid in 0·01% solution there is an increase in:

1. length of roots of all experimental plants, a smaller increase in the length of their overground parts (see Plate 1, 2, 3).
2. fresh weight of overground parts of all experimental plants (highly significant), while dry weight is increased only with maize and gourd plants (highly significant), in wheat in both series it remains the same as for the control (Fig. 1 to 4).

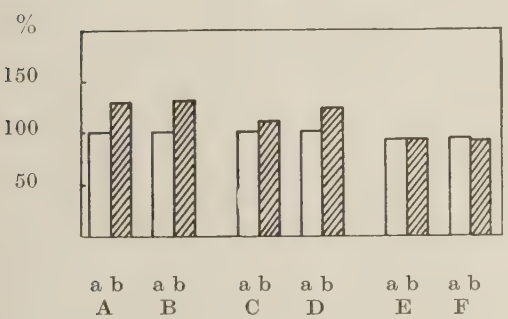


Fig. 3.

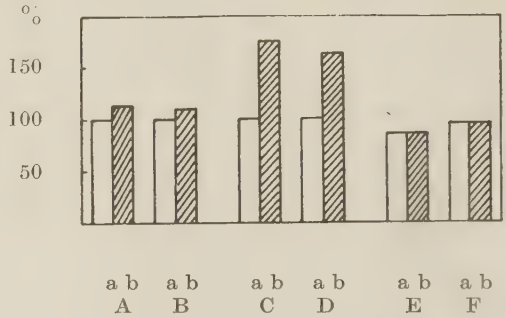


Fig. 4.

Fig. 3. The influence of humus acid on the growth of maize plants (Age 14 days)

A = fresh weight of overground parts; a = control — average weight of one plant = 227·60 mg., b = 0·01% humus acid solution — average weight of one plant = 292·60 mg.
B = dry weight of overground parts; a = control — average weight of one plant = 19·30 mg., b = 0·01% humus acid solution — average weight of one plant = 25·30 mg.
C = fresh weight of roots; a = control — average weight of roots of one plant = 142·40 mg., b = 0·01% humus acid solution — average weight of roots of one plant = 157·80 mg.
D = dry weight of roots; a = control — average weight of roots of one plant = 10·40 mg., b = 0·01% humus acid solution — average weight of roots of one plant = 12·80 mg.
E = water content of overground parts; a = control, b = 0·01% humic acid solution.
F = water content of roots; a = control, b = 0·01% humus acid solution.

Fig. 4. The influence of humus acid on the growth of gourd plants (Age 14 days)

A = fresh weight of overground parts; a = control — average weight of one plant = ·1210 mg., b = 0·01% humus acid solution — average weight of one plant = 1367 mg.
B = dry weight of overground parts; a = control — average weight of one plant = 191·70 mg., b = 0·01% humus acid solution — average weight of one plant = 210·90 mg.
C = fresh weight of roots; a = control — average weight of roots of one plant = 295·90 mg., b = 0·01% humus acid solution — average weight of roots one plant = 516·00 mg.
D = dry weight of roots; a = control — average weight of roots of one plant = 14·07 mg., b = 0·01% humus acid solution — average weight of roots of one plant = 22·60 mg.
E = water content of overground parts; a = control, b = 0·01% humus acid solution.
F = water content of roots; a = control, b = 0·01% humus acid solution.

3. fresh and dry weights of roots of all experimental plants (highly significant, see Fig. 1 to 4).
4. in wheat in the distilled water series water content of overground parts by 2%, of roots by 3%; in the water culture series and in maize and gourd there is no noticeable change (Fig. 1 to 4).

Respiration of wheat roots in distilled water

The effect of 0·01% humus acid solution is to increase the respiration intensity of the roots of plants in this series, both O_2 consumption and CO_2 production being raised. But while the increase in the amount of CO_2 production is quite significant, throughout the course of the experiment (14 days), the increase in O_2 consumption is not significant for the first 6 days, or is only just significant. From the 7th to 14th day of the plants' life (phase of 1st to 3rd leaves) the difference in O_2 consumption as between the control and the experimental variant is highly significant (Table 1).

While the absolute value for O_2 consumption drops for the control and the experiment from the plants' 3rd to 11th day and then rises again, the percentual difference of the values rises from the 3rd to the 12th day and then drops from 11% on the 3rd day to 60% on the 12th day and 21% on the 14th day (Table 1).

The absolute value of CO_2 production also drops for the control and the experiment from the plants' 3rd to 11th day and then rises again, while the percentual difference rises from the 3rd to the 12th day from 19% to 63% and drops to 25% on the 14th day.

The RQ is only slightly increased in this series and the increase is almost always not significant (significant only on the 3rd, 4th and 6th days of the plants' growth). The absolute values for O_2 consumption are higher than the absolute values for CO_2 production both in the control and the experiment throughout the duration of the experiment. The percentual difference between the control and the experiment is, however, greater for CO_2 production than for O_2 consumption throughout the experiment. This means that the RQ (CO_2 : O_2) is always below 1·00 and ranges from 0·70 to 0·86 in the control and from 0·75 to 0·89 in the experiment (Table 1).

Respiration of wheat roots in culture solution series

The effect of humus acid also brings about an increase in respiration of wheat roots in this series, both O_2 consumption and CO_2 production being involved (both highly significant for the whole period of the experiment, Table 2).

The absolute values for O_2 consumption and CO_2 production are higher in this series than in that with distilled water. Both values drop from the 3rd to 9th days of the plants' life and then rise again, attaining somewhat higher values on the 14th day than at the start of the experiment. The percentual difference between the control and the experiment changes only slightly

Table 1. The influence of humus acid on respiration of wheat roots in the distilled water series

Days	Variety	O_2			CO_2			RQ		
		$\bar{x} \pm 3\,s_{\bar{x}}$	%	Significance	$\bar{x} \pm 3\,s_{\bar{x}}$	%	Significance	$\bar{x} \pm 3\,s_{\bar{x}}$	%	Significance
3	H_2O	123·5 ± 3 . 5·2	100		101·0 ± 3 . 3·5	100		0·82 ± 3 . 0·016	100	
	0·01%	137·0 ± 3 . 4·6	111	—	120·2 ± 3 . 4·6	119	+++	0·89 ± 3 . 0·015	109	+
4	H_2O	138·5 ± 3 . 4·6	100		98·9 ± 3 . 5·7	100		0·72 ± 3 . 0·042	100	
	0·01%	147·3 ± 3 . 3·0	106	+	124·6 ± 3 . 7·3	125	++	0·84 ± 3 . 0·029	116	+
5	H_2O	129·2 ± 3 . 5·3	100		100·3 ± 3 . 4·9	100		0·78 ± 3 . 0·022	100	
	0·01%	144·5 ± 3 . 3·0	111	+	118·3 ± 3 . 2·7	118	++	0·82 ± 3 . 0·010	105	—
6	H_2O	106·6 ± 3 . 2·9	100		77·7 ± 3 . 2·4	100		0·72 ± 3 . 0·012	100	
	0·01%	119·2 ± 3 . 5·4	111	—	92·2 ± 3 . 4·4	119	++	0·78 ± 3 . 0·015	108	+
7	H_2O	108·3 ± 3 . 3·9	100		80·7 ± 3 . 5·0	100		0·74 ± 3 . 0·017	100	
	0·01%	129·1 ± 3 . 4·8	119	+++	100·8 ± 3 . 3·9	125	++	0·78 ± 3 . 0·002	105	—
8	H_2O	108·1 ± 3 . 8·5	100		80·4 ± 3 . 6·9	100		0·74 ± 3 . 0·020	100	
	0·01%	152·8 ± 3 . 9·6	141	+++	119·3 ± 3 . 8·5	149	+++	0·78 ± 3 . 0·014	105	—
9	H_2O	97·3 ± 3 . 3·9	100		70·6 ± 3 . 3·6	100		0·73 ± 3 . 0·018	100	
	01·0%	113·5 ± 3 . 3·5	116	++	88·4 ± 3 . 4·7	117	++	0·78 ± 3 . 0·030	106	—
10	H_2O	97·5 ± 3 . 4·1	100		68·1 ± 3 . 3·4	100		0·70 ± 3 . 0·014	100	
	0·01%	140·6 ± 3 . 5·2	145	+++	103·5 ± 3 . 2·5	153	+++	0·75 ± 3 . 0·024	105	—
11	H_2O	77·5 ± 3 . 4·9	100		63·3 ± 3 . 4·5	100		0·80 ± 3 . 0·060	100	
	0·01%	104·7 ± 3 . 6·2	135	+++	90·8 ± 3 . 8·6	144	+++	0·88 ± 3 . 0·033	106	
12	H_2O	86·8 ± 3 . 2·4	100		72·8 ± 3 . 4·0	100		0·84 ± 3 . 0·028	100	
	0.01%	138·6 ± 3 . 8·8	160	+++	119·0 ± 3 . 8·9	163	+++	0·86 ± 3 . 0·024	105	—
13	H_2O	97·7 ± 3 . 1·8	100		84·0 ± 3 . 1·2	100		0·86 ± 3 . 0·018	100	
	0·01%	121·9 ± 3 . 4·5	125	+++	107·5 ± 3 . 4·9	129	+++	0·88 ± 3 . 0·009	103	–
14	H_2O	101·3 ± 3 . 3·3	100		87·6 ± 3 . 3·2	100		0·86 ± 3 . 0·013	100	
	0·01%	123·4 ± 3 . 5·0	121	+++	109·3 ± 3 . 2·8	125	+++	0·88 ± 3 . 0·015	103	—

Table 2. The influence of humus acid on respiration of wheat roots in culture solution series

Days	Variety	O_2			CO_2			RQ		
		$\bar{x} \pm 3\,s_{\bar{x}}$	%	Significance	$\bar{x} \pm 3\,s_{\bar{x}}$	%	Significance	$\bar{x} \pm 3\,s_{\bar{x}}$	%	Significance
3	Knop	154·5 ± 3 . 6·8	100		104·7 ± 3 . 3·6	100		0·68 ± 3 . 0·010	100	
	0·01%	172·2 ± 3 . 5·6	112	+	122·3 ± 3 . 3·3	117	+ + +	0·71 ± 3 . 0·013	105	—
5	Knop	160·0 ± 3 . 4·1	100		110·3 ± 3 . 3·2	100		0·69 ± 3 . 0·013	100	
	0·01%	191·3 ± 3 . 2·8	120	+ + +	138·3 ± 3 . 4·6	125	+ + +	0·73 ± 3 . 0·013	106	+
7	Knop	126·0 ± 3 . 3·9	100		96·4 ± 3 . 1·7	100		0·77 ± 3 . 0·015	100	
	0·01%	155·8 ± 3 . 2·6	124	+ + +	126·7 ± 3 . 1·8	131	+ + +	0·81 ± 3 . 0·011	105	+
9	Knop	106·4 ± 3 . 2·3	100		70·6 ± 3 . 2·3	100		0·66 ± 3 . 0·010	100	
	0·01%	122·8 ± 3 . 2·8	116	+ + +	86·3 ± 3 . 2·7	123	+ + +	0·70 ± 3 . 0·015	106	—
11	Knop	129·0 ± 3 . 2·2	100		85·7 ± 3 . 1·9	100		0·66 ± 3 . 0·013	100	
	0·01%	156·2 ± 3 . 7·5	122	+ + +	109·8 ± 3 . 3·5	123	+ + +	0·70 ± 3 . 0·015	106	—
14	Knop	156·5 ± 3 . 4·3	100		108·0 ± 3 . 2·4	100		0·69 ± 3 . 0·017	100	
	0·01%	183·2 ± 3 . 5·1	110	+ + +	135·3 ± 3 . 5·4	125	+ + +	0·73 ± 3 . 0·015	106	—

O_2 consumption and CO_2 production are given in $^1/_{10}$ min. 1 g. fresh weight of roots; RQ = $CO_2 : O_2$ µl.
Significance: t = 0·1—1·0% = highly significant = + + +; t = 1·0—2·0% = satisfactorily significant = + +; t = 2·0—5·0% = significant = +; 5·0% = not significant = —; n = 15

with the age of the plant both for O_2 consumption and CO_2 production. For O_2 consumption there is a rise from the 3rd to the 12th day of 12% to 24% and a drop to 10% by the 14th day. In the case of CO_2 production the rise between the 3rd and the 7th day is from 17% to 31% with a drop to 25% by the 14th day.

Here too the RQ is less than 1·00 for the control and the experiment and ranges from 0·66 to 0·77 in the control and from 0·70 to 0·81 in the experiment. These values are rather lower than in the distilled water series. The differences between the control and the experiment are, however, almost entirely non-significant (Table 2).

Respiration of maize roots

With maize too, root respiration both as regards O_2 consumption and CO_2 production is increased by humus acid and the values are generally highly significant; on the 14th day they are not significant for CO_2. The absolute values for O_2 consumption in the control and the experiment and the percentual differences between them increase from the 5th to the 9th day and then de-

crease, while the absolute values for CO_2 production rise in both variants from the 5th to the 9th day, drop to the 11th day and rise again on the 14th day, this rise being greater in the control than the experiment. The percentage differences in CO_2 production between the control and the experiment increase from the 5th to the 11th day and then drop, until on the 14th day there is hardly any difference between them. The absolute values for O_2 consumption and CO_2 production are lower than for wheat in the distilled water series. The RQ is increased under the influence of humus acid from the 3rd to the 11th day (highly significant), but on the 14th day it is lower in the experiment than in the control and here, too, the difference is highly significant. The RQ values are again less than 1·00 for both variants and amount 0·54 to 0·93 for the control and 0·73 to 0·88 for the experimental variant (Table 3).

Table 3. The influence of humus acid on respiration of maize roots

Days	Variety	O_2			CO_2			RQ		
		$\bar{x} \pm 3\,s_{\bar{x}}$	%	Significance	$\bar{x} \pm 3\,s_{\bar{x}}$	%	Significance	$\bar{x} \pm 3\,s_{\bar{x}}$	%	Significance
5	H_2O	93·3 ± 3 . 1·10	100		69·0 ± 3 . 0·61	100		0·74 ± 3 . 0010	100	
	0·01%	104·0 ± 3 . 1·30	111	+++	84·1 ± 3 . 0·73	121	+++	0·81 ± 3 . 0·011	110	+++
7	H_2O	102·8 ± 3 . 0·97	100		72·5 ± 3 . 0·87	100		0·81 ± 3 . 0·009	100	
	0·01%	112·1 ± 3 . 1·05	110	+++	84·9 ± 3 . 0·91	117	+++	0·75 ± 3 . 0·010	109	++
9	H_2O	115·0 ± 3 . 0·86	100		75·3 ± 3 . 0·89	100		0·65 ± 3 . 0·011	100	
	0·01%	134·0 ± 3 . 1·17	116	+++	97·5 ± 3 . 1·91	129	+++	0·73 ± 3 . 0·010	112	+++
11	H_2O	99·0 ± 3 . 0·79	100		53·4 ± 3 . 1·54	100		0·54 ± 3 . 0·009	100	
	0·01%	101·8 ± 3 . 0·58	103	++	77·1 ± 3 . 1·63	145	+++	0·76 ± 3 . 0·011	140	+++
14	H_2O	85·9 ± 3 . 0·31	100		79·9 ± 3 . 0·57	100		0·93 ± 3 . 0·013	100	
	0·01%	92·0 ± 3 . 0·63	107	++	81·2 ± 3 . 0·45	101	—	0·88 ± 3 . 0·010	95	+++

Respiration of gourd roots

The increase brought about by humus acid in the O_2 consumption by gourd roots is very slight (highly significant only on the 13th day). On the 12th day there is even a decrease (highly significant). CO_2 production is also increased, although it is only highly significant on the 10th, 13th and 14th days, while on the 11th and 12th days it is not significant. The absolute values for O_2 consumption decrease in both variants with the ageing of the plants, but the percentage differences between

Table 4. The influence of humus acid on respiration of gourd roots.

Days	Variety	O_2			CO_2			RQ		
		$\bar{x} \pm 3\, s_{\bar{x}}$	%	Significance	$\bar{x} \pm 3\, s_{\bar{x}}$	%	Significance	$\bar{x} \pm 3\, s_{\bar{x}}$	%	Significance
10	H_2O	39·6 ± 3 . 1·23	100		32·9 ± 3 . 0·97	100		0·83 ± 3 . 0·008	100	
	0·01%	44·9 ± 3 . 1·65	114	+	41·2 ± 3 . 1·05	126	+ + +	0·91 ± 3 . 0·011	111	+ + +
11	H_2O	40·8 ± 3 . 1·17	100		35·7 ± 3 . 1·13	100		0·88 ± 3 . 0·010	100	
	0·01%	43·0 ± 3 . 1·07	106	—	37·3 ± 3 . 0·93	105	—	0·87 ± 3 . 0·010	99	—
12	H_2O	34·0 ± 3 . 0·89	100		31·0 ± 3 . 0·87	100		0·91 ± 3 . 0·015	100	
	0·01%	25·4 ± 3 . 1·01	75	+ + +	31·2 ± 3 . 0·91	101	—	1·24 ± 3 . 0·015	136	+ + +
13	H_2O	22·7 ± 3 . 1·13	100		20·3 ± 3 . 0·73	100		0·90 ± 9 . 0·015	100	
	0·01%	32·8 ± 3 . 1·27	145	+ + +	35·4 ± 3 . 1·61	175	+ + +	1·08 ± 3 . 0·013	120	+ + +
14	H_2O	20·8 ± 3 . 1·50	100		16·1 ± 3 . 0·71	100		0·77 ± 3 . 0·017	100	
	0·01%	23·7 ± 3 . 2·31	114	—	20·7 ± 3 . 0·93	128	+ + +	0·88 ± 3 . 0·015	114	+ + +

the variants are very fluctuating. The absolute values for CO_2 production also decrease in both variants with the ageing of the plants, but the percentage differences between them fluctuate greatly in this case, too. Of the three types of plants in this experiment gourd gave the lowest absolute values for O_2 consumption and CO_2 production by the roots.

Humus acid causes an increase in RQ values, which is in general highly significant, with the exception of the 11th day when it is non-significant. The RQ values for gourd roots exceed the theoretical value of 1·00 in two cases of the experimental variant, the values being 0·77 to 0·91 for the control and 0·87 to 1·24 for the experiment (Table 4).

Discussion

The results of the experiments described above demonstrate that under the given experimental conditions humus acid brings about an increase in respiration in roots of all three types of plant used in the experiments; both O_2 consumption and particularly CO_2 production are affected; some differences appear among the different species. Other authors have also recorded increases in O_2 consumption caused by humus (Biber and Magaziner 1951, Khristeva 1953, 1955, Šmídová 1957). Increase in production of CO_2 has also been noted previously (Flaig and Saalbach 1955, Tichý 1956, Gumiński et al. 1955).

Plate 1. Winter wheat Pyšelka — left to right 0·01% humus acid solution in distilled water; distilled water humus acid solution in Knop's solution; Knop's solution.

Plate 2. Zajíček's "Český koňský zub" maize—left to right 0·01% humus acid solution in distilled water: distilled water.

Plate 3. "Veltruská velkoplodá" gourd plant—left to right distilled water, 0·01% humus acid solution in distilled water.

Gumiński (1955) found that under the influence of humus the O_2 consumption by intact roots in anaerobic conditions of low O_2 level is lowered, while production of CO_2 is increased. He explains the decrease in O_2 consumption as being due to the consumption of O_2 by Na-humate added to the culture medium, whereby the amount of dissolved O_2 in the culture solution is considerably reduced. It is known from previous work that changes in the respiration processes take place under anaerobic conditions and that in such cases the RQ is increased. If, then, Gumiński had a lower O_2 content in the experimental vessels with Na-humate than in those to which Na-humate was not added, the ratio CO_2 : O_2 would necessarily change irrespective of the presence of Na-humate. In the present experiments, however, there was no question of anaerobic conditions during the measurement of respiration intensity, for the separated root tips of control and experimental plants were put into redistilled water without the addition of humus acid and the solution was aerated during the whole period of measurement by regular shaking on the Warburg apparatus shaker. Thus, a determination was made here of the difference between the intensity of respiration of separated root tips of plants grown in redistilled water or in culture solution and of plants grown in 0·01% humus acid solution in redistilled water or in culture solution, the experimental conditions being constant. It was clearly a question of the resultant effect of humus acid on the respiratory processes of the plant roots. .

Flaig and Saalbach (1955), who found that model compounds of humus (thymohydroquinon) had a favourable effect on germination and the first growing phase stage of cereals, ascribe this phenomenon to increased respiration. They determined respiration intensity by direct measurement of produced CO_2 and dehydrase activity and by indirect assessment from the rate of germination and from dry weight increase. In their opinion, increased respiration leads to the liberation of a greater amount of energy, which is utilized for cell division and growth—i.e. for increase in dry weight. Increase in cell division under the influence of humus was also observed by Wolnicka and Niklewski (1937).

Cell division and growth can, however, only take place when the other conditions are also at an optimum—above all when there is a sufficiency of nutrients. If the results of the present experiments are examined from this point of view it is evident that in wheat grown in distilled water humus acid causes an increase in the dry weight of roots of 9% as compared with the control, while the dry weight of the overground parts remains the same as in the control. In the series with culture solution the dry weight of roots is increased by humus acid by 19%, while the dry weight of overground parts remains the same as in the control. If the dry weight of wheat roots grown in distilled water without the addition of humus acid is taken as 100%, then the dry weight of wheat roots grown in culture solution without the addition of humus acid amounts to 104%, that of plants grown in distilled water with humus acid added is 109% and of wheat plants grown in culture solution with humus acid added is 124%. This indicates that the dry weight of plants shows a greater increase under the influence of humus acid when there is an adequate supply of mineral nutrients than when distilled water alone is used.

If we compare the water content of the overground parts and roots of the

experimental plants, we find that plants grown in culture solution hold more water than those grown in distilled water. The influence of humus acid is to increase the water content in wheat in the series with distilled water by 3% for the roots and 2% for the overground parts (significant). With wheat in the culture solution series the water content of roots is almost unchanged by the presence of humus acid, in the overground parts it increases by 1% (non-significant). With gourd and maize grown in distilled water alone the water content is practically uninfluenced by humus acid.

A comparison of the intensity of respiration in the different experimental plants, using the absolute consumption of O_2 and production of CO_2 by separated root tips as the criterion, shows that the greatest intensity of respiration was measured with wheat roots grown in Knop's solution (Table 2), then with wheat in distilled water (Table 1), then with maize (Table 3) and the least with gourd plants (Table 4). With maize and gourd plants, although they were grown in distilled water without the addition of mineral nutrients, humus acid has the effect of increasing dry weight both of roots and overground parts. This phenomenon can be explained in the author's opinion by the fact that increased respiration under the influence of humus acid leads to a more rapid reduction and utilization of substances in the storage organs, i.e. in the endosperm or cotyledons. These substances can be used by germinating plants not only for respiration but also for the synthesis of substances needed for growth. Since the reserve of substances in wheat endosperm is much less than in that of maize or in gourd cotyledons, the increase of dry weight in wheat is not as great as in the cases of maize and gourd. Exhaustion of the reserve substances in the seed takes place much sooner in wheat and if the plants have not an adequate supply of mineral nutrients in the substrate, dry weight cannot increase. Although the increase in dry weight of wheat was greater with the culture solution used in this experiment than with distilled water, it would seem that even then the plants did not have enough nutrient. Maize and gourd have a greater amount of reserve material in their storage organs and in addition their respiration intensity (measured by absolute O_2 consumption and CO_2 production) is lower than in wheat. It therefore takes longer for the reserve substances to be exhausted, even though respiration intensity increases here too under the influence of humus acid. Increased respiration leads not only to more rapid reduction and utilization of reserve substances in respiration, but also to more rapid synthesis and so to more rapid growth and increase in dry weight.

Distilled water is known to be a non-physiological medium for plants. The addition of mineral salts (Knop's culture solution), or of humus acid even in such a low concentration (0·01%) as in these experiments makes the medium more favourable and metabolic processes (e.g. respiration) take place more intensively.

As far as the RQ ($CO_2 : O_2$) is concerned, humus acid gives rise to very slight change and in practically all cases it reaches approximately the theoretical value of 1·00. The case of gourd roots is, however, interesting. RQ values of 0·60 to 0·75 are usually mentioned for this plant. In the present experiments, however, the RQ was considerably higher and in variants with humus acid it exceeded the value of 1·00 in two cases. A similar increase for gourd

is mentioned by JAMES (1956), so that an abnormality would not appear to be involved.

The results of the present experiments show that the respiration intensity of all the experimental plants is increased by the presence of humus acid, and on this basis increase in dry weight is also intensified. It cannot be said, however, that dry weight increase is directly correlated with respiration intensity, for dry weight depends on a number of other factors, of which the importance of nutrients has already been mentioned. The results so far do not suffice to explain the mechanism of the effect of humic acid on respiratory processes. FLAIG and SAALBACH (1956) consider that humus substances serve as carriers of hydrogen in the terminal oxydase system. In order to prove this hypothesis it will be necessary, however, to carry out a number of further experiments and detailed investigations of the enzymatic respiratory systems and the influence of humus acid upon them.

References

BIBER, V. A., MAGAZINER, K. M.: O vliyanii guminovykh i fulvovykh kislot na dykhanie izolirovannykh rastitelnykh tkaney. [The influence of humic and fulvic acids on the respiration of isolated plant tissues.] — Dokl. AN SSSR **76** : 609—616, 1951.

KHRISTEVA, L. A.: Ob uchastii guminovykh kislot i drugikh organicheskikh veshchestv v pitanii vysshikh rasteny. [The part played by humic acids and other organic compounds in the nutrition of higher plants.] — Pochvovedenie **10** : 46—59, 1953.

KHRISTEVA, L. A.: Uchastie guminovykh kislot i drugikh organicheskikh veshchestv v pitanii vysshikh rasteny i agronomicheskoe znachenie etogo vida pitaniya. [The part played by humic acids and other organic compounds in the nutrition of higher plants and the significance of this nutrition in agronomy.] — Izv. An SSSR ser. biol. **4** : 58—83, 1955.

FLAIG, W., SAALBACH, E.: Zur Kenntnis der Huminsäuren. X. Mitteilung. Über den Einfluss des Thymohydrochinons als Modellsubstanz von Vorstufen bzw. Abbauprodukten von Huminsäuren auf das Wurzelwachstum von Sommerweizen. — Ztschr. f. Pflanzenernähr., Düngung u. Bodenk. **71** : 215—224, 1955.

FLAIG, W., SAALBACH, E.: Zur Kenntnis der Huminsäuren. XI. Mitteilung. Die Beinflussung der Keimung von Getreide durch Thymohydrochinon als Modellsubstanz von Vorstufen bzw. Abbauprodukten von Huminsäuren. — Ztschr. f. Pflanzenernähr., Düngung u. Bodenk., **71** : 215—224, 1955.

FLAIG, W., SAALBACH, E.: Zur Kenntnis der Huminsäuren. XII. Mitteilung. Untersuchungen über den Einfluss von Thymohydrochinon als Modellsubstanz von Vorstufen bzw. Abbauprodukten von Huminsäuren auf die Atmung von Getreide. — Ztschr. f. Pflanzenernähr., Düngung u. Bodenk. **72** : 7, 1956.

GUMIŃSKI, S., CZERWIŃSKI, W., UNGER, E., BACOWA, A.: Badanija nad oddychanijem korzeni. (Research on the respiration of roots.) — Cz. I. Acta Soc. Bot. Pol. **24** : 723—731, 1955.

HRUBÝ, K.: Variabilita a korelace v biologii. (Variation and correlation in biology.) — Rozpravy II. tř. ČA, r. **60** (17), 1950.

JAMES, W. O.: Plant respiration. Dykhanie rasteny. p. 152. Izd. inostrannoy literatury Moskva 1956.

PRÁT, S., ŘETOVSKÝ, R.: Praktikum rostlinné fysiologie. [Practical plant physiology.] — Praha 1951.

ŠMÍDOVÁ, M.: O vlivu humátu na dýchání pšenice. [The influence of humate on respiration in wheat.] Paper read at the Polish-Czechoslovak symposium "Próchnica a roślina" at Poznań on November 24, 1957.

TICHÝ, V.: Vliv kvalitativního složení humusu na růst a metabolismus mladých rostlin jarní pšenice. Kandidátská disertace MU Brno, 1956. [The influence of the qualitative composition of humus on the growth and metabolism of young spring wheat plants.] C. Sci. Thesis at Brno University 1956.

Wolnicka, J., Niklewski, B.: Extr. du Bull. de l'Acad. Cracovie 1937, 147. Quoted from Niklewski, B., Próchnica a roślina. — Lublin 1944.

Address: Miroslava Šmídová, prom. biol., Katedra fysiologie rostlin a biologie půdy přírodovědecké fakulty UK, Praha II, Viničná 5

BIOL. PLANT. 2 (2) : 152—164, 1960

Влияние гумусовой кислоты на дыхание корней растений

Мирослава Шмидова

Кафедра физиологии растений и биологии почвы Естественного факультета Карлова университета, Прага

Резюме

Гумусовая кислота (Humussäure Riedel de Haen AG. Seelze-Hannover) в концентрации 0,01 % повышает интенсивность дыхания корней растений, выращенных в водных культурах, что проявлялось как в более высоком потреблении O_2, так и, в особенности, в повышенном выделении CO_2 и тем самым в более высоком дыхательном коэффициенте ($CO_2 : O_2$). В опытах были использованы растения озимой пшеницы Пышелка (Triticum vulgare Vill.), кукурузы Заичкув чески коньски зуб (Zea mays L.) и тыквы Велтрусска велкоплода (Cucurbita maxima L.). Потребление O_2 и выделение CO_2 измерялось на отрезанных кончиках корней прямым методом Варбурга. Повышенная интенсивность дыхания влечет за собой ускорение роста растений, что проявляется, главным образом, в длине корней и их сухом весе (у всех опытных растений), и у кукурузы и у тыквы — также в сухом весе их надземных частей.

BIOLOGIA PLANTARUM (PRAHA)

2 (2) : 165—168, 1960

KURZE MITTEILUNG

Aufklatschchromatographie der Zucker der durch Humussäure beeinflusten Weizenpflanzen

ALENA ČINČEROVÁ

Lehrkanzel f. Pflanzenphysiologie und Bodenbiologie der naturwiss. Fakultät der Karlsuniversität, Praha

Eingegangen am 23. Dezember 1959

Souhrn. V příspěvku je popsána jednoduchá úprava nátlačkové chromatografie pro vyhodnocování glycidů v sušině nátlačků. Metoda byla vypracována k sledování hladiny jednotlivých volných glycidů v kořenových špičkách pšenice, pěstované v kulturách s humusovou kyselinou za různé relativní vlhkosti ovzduší a je ilustrována v předloženém příspěvku na příkladu glukosy v podmínkách nízké relativní vlhkosti. Hladina glukosy klesá s vývojem rostliny do fáze 2. listu. Zatím co ve fázi 1. listu je vyšší u varianty s humusovou kyselinou, ve fázi 2. listu je vyšší hladina glukosy v kontrolních rostlinách. Rozdíl je průkazný.

Zusammenfassung. Im vorliegenden Beitrag ist eine einfache Methode der Aufklatschchromatographie für die Bewertung des Zuckergehaltes in der Trockensubstanz der Aufklatsche (Aufklatschmasse) beschrieben. Diese Methode ist zum Zwecke der Verfolgung des Spiegels der einzelnen Zucker in den Wurzelspitzen des Weizens ausgearbeitet worden, der in Kulturen mit Humussäurezusatz bei verschiedener relativer Luftfeuchtigkeit wuchs. In der vorliegenden Arbeit ist er am Beispiel der Glukose unter den Bedingungen niedriger, relativer Feuchtigkeit klargestellt worden. Der Glukosegehalt sinkt mit der Entwicklung der Pflanze bis zum Eintritt der Phase des zweiten Blattes. Während er in der Phase des ersten Blattes bei der Variante mit Humussäure grösser ist, ist dies in der Phase des zweiten Blattes bei den Kontrollpflanzen der Fall,

Einleitung. Zurzeit ist eine ganze Reihe von Arbeiten bekannt, die den Einfluss von Humusstoffen in verschiedenen Bereichen physiologischer Vorgänge der Pflanze verfolgen. Einige Angaben betreffen Veränderungen des Zuckerspiegels nach einer Applikation von Humusstoffen. Vorderhand ist jedoch die Wirksamkeit dieser Stoffe auf die Dynamik der einzelnen Zucker nicht beschrieben worden und darum entwickelte ich meine Aufmerksamkeit in dieser Richtung. Aus den chromatographischen Analysen entnahm ich, dass die einzelnen freien Zucker und Aminosäuren empfindlich und charakteristisch auf die Gegenwart von Humusstoffen in den Kulturen reagieren. Im vorliegenden Beitrag möchte ich knappe Informationen über den Einfluss der Humussäure auf den Spiegel der freien Zucker in den Wurzelspitzen des Weizens geben. Für die Durchführung des Versuches musste eine geeignet abgestimmte, analytische Methodik ausgearbeitet werden. Da ich auch einen unterschiedlichen Einfluss verschiedener relativer Luftfeuchtigkeitsmengen auf den Spiegel der einzelnen Zucker beobachtete, legte ich die Versuche mit Weizen unter zweierlei Feuchtigkeitsbedingungen an. Nach Beendung der ausgedehnten Versuche wird das Material in Einzel- wie in Sammelberichten bearbeitet werden.

Material und Methoden. Der Weizen P y š e l k a (*Triticum vulgare* Vill. Sorte Pyšelka) wurde in Petrischalen auf Filtrierpapier mit redestilliertem Wasser zum Keimen gebracht. Die Keimpflänzchen (Hauptwurzel 25—30 mm, Koleoptile 7—10 mm) wurden in die Öffnungen von Verschlüssen aus paraffingetränkter Gaze über Bechergläser von 250 ml eingesetzt. Die Gläser wurden in schwarzes Papier eingehüllt. Der Versuch wurde in zwei Varianten ausgeführt.

1. Humussäure — HS (Riedel de Haën A. G. Seelze-Hannover (Deutsche Bundesrepublik) 10^{-2}% Lösung des Kalisalzes in redest. Wasser
2. Kontrolle — K (redestilliertes Wasser).

Jede Kultur enthielt 12 Versuchspflanzen. In den einzelnen Versuchen war jede Variante mit 192 Pflanzen vertreten. Die Kulturen wurden in einem Raume mit einer konstanten Temperatur von 21 ± 2° C gezüchtet, welche mit Leuchtröhren belichtet wurden, die auf einen 16-Stundentag eingerichtet waren. Die Ergebnisse der beschriebenen Versuche wurden bei einer sog. „trockenen Variante" aufgefangen, deren relative Feuchtigkeit sich zwischen 40 und 60% bewegte. Der Weizen wurde nacheinander in der Keimphase und weiter in der Phase des ersten und zweiten Blattes analysiert.

Mit Rücksicht auf die Schwierigkeit, Extrakte aus Wurzelspitzen des Weizens zu gewinnen, verwendete ich zur chromatographischen Verteilung der Glukose eine Aufklatschmethode in groben Zügen so, wie sie Úlehla und Úlehlová (1956) beschrieben haben. Da sich diese Methode lediglich für qualitative Zwecke, allenfalls zur Feststellung quantitativer Verhältnisse im Frischgewebe verwenden lässt, modifizierte ich sie für die quantitative Wertung der Trockensubstanz. Ich schnitt ca 5 mm lange Wurzelspitzenstücke zu, wog ihr Frischgewicht

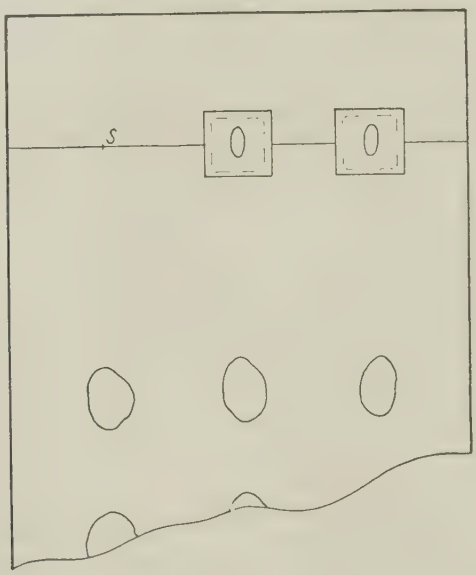


Abb. 1.

auf der Torsionswaage, zerquetschte sie zwischen Plexitplättchen (die Unterlage vom Ausmasse 12 × 14 cm, die Aufdruckplatte 2,5 × 7,5 cm) auf die bezeichneten Startstellen von viereckigen Chromatographiepapierstückchen (P — 40 m²) der Marke Whatman Nr. 4. Chromatogramme und entsprechende Viereckchen wurden stets aus dem gleichen Papierbogen ausgeschnitten. Die leeren Viereckchen wurden vorher in warmem Luftstrom getrocknet, im Exsikkator aufbewahrt und mehreremale gewogen. Das Zerreiben (Zerquetschen) der Wurzelspitzen führte ich gleichfalls in warmem Luftstrom durch, so dass das Objekt in wenigen Sekunden völlig getrocknet erschien. Die Viereckchen mit dem Trockenpräparat wurden ebenfalls in den Exsik-

kator getan und gleichfalls mehreremale gewogen. Mit Rücksicht auf eine weitere Bewertung der Glukosemenge in situ mit Hilfe des Densitometers war es notwendig, die einzelnen Spitzen so zu zerreiben, dass die Trockensubstanz (das Trockenpräparat) eine regelmässige Form annahm, was sich bei einiger manueller Geschicklichkeit verhältnismässig leicht erzielen lässt. Die gewogenen Viereckchen wurden an die Startstelle eines Chromatographiepapierstreifens (14 × 38 cm) angeheftet (Abb. 1). Die angehefteten Viereckchen wahrten streng die strukturelle Richtung des entsprechenden Chromatogrammes. Jedes Chromatogramm enthielt die Standardlösung der Zucker, war auf Überfliessen eingerichtet und wurde viermal in einer Mischung von Butanol, Essigsäure und Wasser (4 : 1 : 5) entwickelt. Die Detektion führte ich durch Zerstäubung von Anilinoxalat und Trocknung des Chromatogrammes bei 110° C durch. Glukose detegiert Anilinoxalat sehr empfindlich und darüber hinaus bewirkt es keine allzustarke Verfärbung des Papieres in der Umgebung der Flecke. Die einzelnen Zucker erschienen stets sehr sauber getrennt und ergaben regelmässige Flecke. Zu einem Verschwimmen der Flecke kam es nie. Etwa drei Stunden nach dem Verlaufe der Detektionsreaktion wurden die Chromatogramme densitometrisch gewertet. Das Densitometer war auf eine automatische Registrierung der Extinktion mit Hilfe des mechanischen Teiles des Polarographen eingerichtet. Die Flächen zwischen den Scheiteln und den Grundlinien wurden planimetrisch bestimmt. Im Hinblick auf die Tatsache, dass ein linearer Zusammenhang zwischen der Fläche der densitometrischen Kurve und der Zuckerkonzentration in verhältnismässig enger Spanne besteht, wurden die Gewichte der Aufklatschpräparate so gewählt, dass die Chromatographie der Zucker dieser Spanne entsprach.

Tafel Nr. 1. Glukosespiegel in den Wurzelspitzen der „trockenen Variante"

Blätterphase	Glukosespiegel (Flächeneinheiten) mg tr. Gew.		HS in % K
	HS	K	
O.	49,42 ± 2,29		
I.	70,6 ± 3 . 5,06	64,9 ± 3 . 4,56	108,8
II.	18,8 ± 3 . 1,56	26,6 ± 3 . 1,72	70,7

Versuchsergebnisse.

Die Blätterphase 0 drückt den Stand der Keimpflanzen vor dem Einsetzen in Kulturen der einzelnen Varianten aus; die I. und die II. Phase den Stand zur Zeit des ersten und des zweiten Blattes. Die Glukosewerte entsprechen dem Durchschnitt von zehn Parallelwerten dreier Versuche für jede Variante und Phase. Der unterstrichene Wert ist im Hinblick auf die Kontrolle statistisch erweisbar.

Die angegebene Tabelle erklärt den Stand des Glukosespiegels in den einzelnen beobachteten Phasen. Im Verlaufe der Entwicklung nimmt die Glukose beider Varianten deutlich ab. In der Phase des ersten Blattes weist die Variante HS im Vergleich zur Kontrolle einen um kaum 9% höheren Spiegel auf. Ein grosser Sprung zeigt sich in der Phase des zweiten Blattes, wenn der Glukosegehalt der Variante HS gegenüber dem Stande in der Erstblattphase um 73% sinkt, während die Kontrollglukose nur um 59% absinkt und so das Verhältnis zugunsten der Variante K nahezu um 30% ändert.

Literatur. Úlehla, J., Úlehlová, B.: Použití „nátlačků" při papírové chromatografii cukrů z rostlinného materiálu. [Über die Verwendung der „Aufklatschtechnik" bei der Papierchromatographie von Zuckern aus pflanzlichem Material.] Čs. biologie 5 : 61—62, 1956.

Anschrift des Verfasserin: Dr Alena Činčerová, Přírodovědecká fakulta KU, Praha II, Viničná 7

BIOL. PLANT. 2 (2) : 165—168, 1960

Хроматография углеводов пшеницы при исследовании действия гумусовой кислоты

Алена Чинчерова

Факультет естествознания Карлова университета, Прага

Резюме

В статье дается описание простого видоизменения отжимной хроматографии, удобной для определения углеводов в сухих, раздавленных частях растений. Метод был разработан для количественного определения отдельных свободных углеводов в верхушках корней пшеницы, выращиваемой в культурах с гумусовой кислотой при разной относительной влажности воздуха. Применение данного метода иллюстрируется на примере глюкозы в условиях низкой относительной влажности. Содержание глюкозы падает при развитии растений до фазы второго листа. В то время как во фазе первого листа содержание глюкозы было выше в варианте с гумусовой кислотой, во фазе второго листа оно выше наоборот у контрольных растений. Это различие статистически доказано.

BIOLOGIA PLANTARUM — Издается Биологическим институтом Чехословацкой Академии Наук в Издательстве ЧСАН, Прага II., Водичкова 40. — Выходит 4 раза в год. Подписная цена на 1 год Кчс 30,—, Руб 12,80, $3.20, £1 2/10; цена одного номера Кчс 7,50. — Адрес редакции: Biologický ústav ČSAV, Na cvičišti 2, Praha 6. Заказы: Artia, Smečky 30, Praha 2, Československo. — Типография: Knihtisk, n. p. závod 4, Praha 13, Sámova 12.

Issued by Institute of Biology of the Czechoslovak Academy of Sciences in the Publishing House ČSAV Praha II, Vodičkova 40. Yearly subscription (4 numbers) Kčs 30,—. Rbl 12.80, $3.20, £1 2/10. Single number Kčs 7.50. — Address: Biologický ústav ČSAV, Na cvičišti 2, Praha 6. Orders: Artia, Smečky 30, Praha 2, Czechoslovakia.

Zájemcům v ČSR dodá Poštovní novinový úřad, Jindřišská 14, Praha 3.

© by Nakladatelství Československé akademie věd 1960.

biologia plantarum

Časopis pro experimentální botaniku
Journal for Experimental Botany
Журнал экспериментальной ботаники
Zeitschrift für experimentelle Botanik

BIOLOGIA PLANTARUM (Journal for Experimental Botany) publishes original scientific papers and brief communications from the fields of plant physiology, experimental ecology, genetics, cytology, experimental morphology, biochemistry and pathology. Articles are published in the most important languages. The author bears the full responsibility for the originality of the paper submitted. Only such contributions will be accepted which contain original results not submitted for publication elsewhere. All contributions are subject to a consideration by the referees and by the Editorial board. The author must give serious consideration to the referees' comments.

The original copy and the first carbon copy along with original illustrations and tables should be sent to Dr. Bohdan Slavík, Biologický ústav ČSAV, Praha 6, Na cvičišti 2, Czechoslovakia. Papers should be in double-spaced typing throughout, i. e. including footnotes, figure legends, tables and references. Each table, figure legends and references should be typed on a separate sheet of paper. The length of a paper should not exceed 10 printed pages, including figures, tables and references, one printed page being approximately equal to two double-spaced typewritten ones (foolscap size). In aranging the manuscript and the references attention should be paid to the usage of recent editions of Biologia plantarum. A summary in Czech, written as a self-contained abstract (objective of the work, short account of methods and material, results and conclusions) will precede the text of each paper. The length of the abstract should never exceed 20 type-written lines. Its text will also be sent by the editors to foreign abstracting journals. Foreign authors shall submit the abstract in the language of the paper.

Each paper should be introduced by a concise Summary, including an account of new findings. This summary, including its translation placed at the end of the paper, should not exceed 60 type-written lines. The following Introduction should be quite brief and include the presentation of the problem to be investigated. Only those papers may be quoted which are in direct contact with the submitted contribution, not those of historical interest only. Latin names and names of persons should not be specially marked by the author in the manuscript. If the author has any suggestions as to the size or species of type (garmond, petit etc.) he should make a note on the margin of the sheet. The final decision shall be made by the editors.

Tables must be arranged and described in such a way that they be comprehensible without referring to the text. Each table should bear a number and a title.

Diagrams should be in Indian ink and drawn on Bristol board or tracing cloth, surrounded by a frame and should have the following sizes: length of the base 12 cm., diameter of experimental points 3 mm., or length of the base 18 cm., diameter of points 4 mm. The text should only be given in pencil. Figure captions and legends should be typed separately.

Photographs should be printed on glossy paper and should be in sharp focus with good contrast. The author's name, the figure number and the top of the figure should be indicated on the reverse side of all illustrations.

References in text should contain author's name followed by the year of publication, e. g. Björn and Virgin (1958), or (Björn and Virgin 1958). References at the end of the paper should be arranged alphabetically as follows:

Björn, L. O., Virgin, H. I.: The influence of red light on the growth of pea seedlings. An attempt to localize the perception. — Physiol. Plant. **11** : 363—373, 1958.

Quotations of papers originally printed in Russian alphabet or any other non-Latin alphabet should be left for transliteration into English or German to the editors. The author's name, the journal and the title of the paper shall appear in the corresponding transliteration and a translation of the title shall be attached. If the original paper has already a foreign-language summary, the author is requested to give its title. E. g.:

Znamensky, I. E.: Fiziologicheskaya i biokhimicheskaya kharakteristika kserofitov. (Physiological and biochemical characteristics of xerophytes.) — Eksper. Botanika **6** : 93—146, 1948.

Similarly, quotations of papers published in less common languages shall be provided with a translation of the paper title in addition to the original.

Following the list of references, the author's full present address should appear.

The author receives one or two proofs of his paper. The manuscript is held to represent the final text of the paper, the proofs serving only to correct typographical errors. The proofs must be returned within two days, otherwise the author's corrections cannot be considered.

The author may obtain 70 reprints without charge.

Ž. Stojanov: Über die Bodenfeuchtigkeit; bei der die Pflanzen absterben 79
J. Řeřábek: Humic Acid Interaction in the Growth Process 88
Л. Хвойка: Транспорт радиофосфата в корнесобственных и прибитых деревях после введения P^{32} в ксилему корня 98
Й. Чатскы, Б. Славик: Полевой прибор для определения интенсивности фотосинтеза 107
E. Daumann: Über die Bestäubungsökologie der Parnassia-Blüte 113
J. Kloz, V. Turková, E. Klozová: Serological Investigation of Taxonic Specificity of Proteins in Various Plant Organs in Some Taxons of the Family *Viciaceae* 126
K. B. Deshpande: Studies on Pectolytic Enzyme System of *Rhizoctonia solani* Kühn . 139
M. Šmídová: The Influence of Humus Acids on the Respiration of Plant Roots 152

Kurze Mitteilung:

A. Činčerová: Aufklatschchromatographie der Zucker der durch Humussäure beeinflussten Weizenpflanzen 165

The following papers are being prepared for the next issue:

J. Tupý: Sugar Absorption, Callose Formation and the Growth Rate of Pollen Tubes

Z. Polák: The Effect of Two Mucoproteins on Infection by Tobacco Mosaic Virus

G. Staar: Zur Problematik der endogenen Virusbildung

J. Bartoš, Š. Kubín I. Šetlík: Dry Weight Increase of Leaf Disks as a Measure of Photosynthesis

V. Fučík: The Seed Progeny of *Solanaceae* Chimeras

J. Luštinec, J. Krekule, and V. Pokorná: Respiratory Pathways in Gibberellin—Treated Wheat

G. Obolensky: Etude microcalorimetrique de l'acceleration de la germination des graines, traitées par les ultra-sons

Z. Šesták, J. Čatský, J. Sahulka: Changes in Sunflower Shoot Structure Under Influence of Gibberellic Acid

F. Plhák: Veränderungen des Wachstums und der Atmungsvorgänge von Maispflanzen, hervorgerufen durch erhöhte Dichte der Bestände

I. Hršel, J. Juráková, K. Beneš: Cytochemical and Electron-Microscopic Investigation of the Golgi Apparatus and Golgi-resembling Inclusions in the Root Meristem of *Fagopyrum esculentum* Moench

Brief Communications:

M. Ulrychová-Zelinková: The Effect of Some Pyrimidine Derivaties on the Multiplication of Tobacco Mosaic Virus

J. Bartoš, N. Avratovščuková: Staining of Chromosomes in Root Tips of Clover *in toto* With a Gallocyanine